

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
29. März 2001 (29.03.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/21585 A2**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07D 203/00 (LV). DOMRACHEVA, Ilona [LV/LV]; Maskavas Strasse 303-86, LV-1063 Riga (LV).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/03441 (74) Anwalt: SCHUBERT, Klemens; Joachimstrasse 9, 10119 Berlin (DE).
- (22) Internationales Anmeldedatum: 22. September 2000 (22.09.2000) (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (25) Einreichungssprache: Deutsch (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch (30) Angaben zur Priorität: 199 47 440.0 24. September 1999 (24.09.1999) DE (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): ANALYTICON DISCOVERY GMBH [DE/DE]; Hermannswerder Haus 17, 14473 Potsdam (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KALVINS, Ivars [LV/LV]; Miera Strasse 17-8, LV-2165 Salaspils (LV). ADRIANOV, Viktor [LV/LV]; Zemes Strasse 4-11, LV-1063 Riga (LV). SHESTAKOVA, Irina [LV/LV]; Spilves Strasse 7-37, LV-1055 Riga (LV). KANEPE, Iveta [LV/LV]; Zentenes Strasse 16-28, LV-1064 Riga

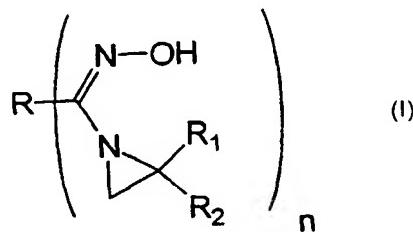
Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: 1-AZIRIDINO-1-HYDROXYIMINOMETHYL-DERIVATIVES, METHOD FOR THE PRODUCTION THEREOF AND MEDICAMENTS CONTAINING SAID COMPOUNDS

(54) Bezeichnung: 1-AZIRIDINO-1-HYDROXYIMINOMETHYL-DERIVATE, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG UND DIESE VERBINDUNGEN ENTHALTENDE ARZNEIMITTEL



**WO 01/21585 A2**

(57) Abstract: Disclosed are novel 1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl derivatives of general formula (I), wherein R represents any organic group which can covalently bond to two aziridinomethyl groups, R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> independently represent a hydrogen atom or a CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> or -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> group, and n stands for a whole number 2. The invention also relates to a method for the production of said compounds and pharmaceutical products containing said compounds. The compounds of general formula (I) have an anti-tumoral effect.

(57) Zusammenfassung: Beschrieben sind neue 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate der allgemeinen Formel (I), worin R einen beliebigen organischen Rest bedeutet, der in der Lage ist, zwei Aziridinomethyl-Gruppierungen kovalent zu binden, R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder eine -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> oder -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> Gruppe stehen, n für eine ganze Zahl 2 steht, sowie ein Verfahren zu deren Herstellung und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel. Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeigen antitumorale Wirkung.



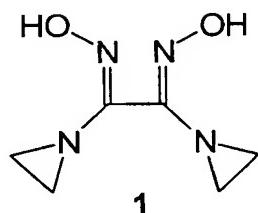
*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.*

**1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate,  
Verfahren zu deren Herstellung  
und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel**

5 Die vorliegende Erfindung betrifft 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate, Verfahren zu deren Herstellung und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel.

10 Im Stand der Technik ist bisher nur ein Bisaziridinoxim der Formel 1 bekannt (Andrianov, V.G., Eremeev, A.V., Zh. Org. Khim. (1991), 27, 112-16; Eremeev, A.V., Piskunova, I.P., Andrianov, V.G., Liepins, E., Khim, Geterotsikl. Soedin (1982), (4) 488-94; Musluoglu, E., Ahsen, V., J. Chem. Research (S) (1999), 142-143).

15

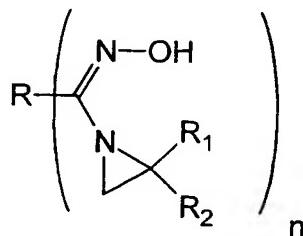


Von den biologischen Eigenschaften dieser Verbindung 1,1'-(1,2-bis-(Hydroximino)-)-1,2-ethandiyl]bis-aziridin (1) oder deren Verwendung als Arzneimittel ist bisher nichts berichtet worden.

Ferner sind aus der DE-OS 21 32 598 u.a. Mono-Aziridinoxime bekannt, welche als Herbicide verwendet werden. In der WO 97/16439 werden gleichfalls Aziridinoxime beschrieben, welche zur Behandlung von Erkrankungen verwendet werden, die mit der Funktion des Chaperon-Systems in Verbindung stehen. Keinesfalls sind jedoch Bis-, Tris- oder gar Tetra-Aziridinoxime beschrieben worden.

30

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, neue 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate der allgemeinen Formel I



5

sowie ein Verfahren zu deren Herstellung zur Verfügung zu stellen. Eine weitere Aufgabe ist es, Arzneimittel die eine Verbindung der allgemeinen Formel I enthalten, zur Verfügung zu stellen.

10

In der allgemeinen Formel I bedeutet R einen beliebigen organischen Rest, der in der Lage ist, zwei Aziridinoxim-Gruppierungen, kovalent zu binden,

15

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> stehen unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder eine -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> oder -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> Gruppe stehen und n eine ganze Zahl 2 ist.

20

Bevorzugt ist, daß R ausgewählt ist aus einer Einfachbindung, linearen oder verzweigten und gesättigten oder ungesättigten Alkanen oder Heteroalkanen mit bis zu 6 C-Atomen und mit bis zu vier Heteroatomen, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkanen, welche gegebenenfalls mit kurzkettigen C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl-, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-, Nitro-, Amino-, monosubstituierten Amino-, und/oder Halogen-Resten substituiert sind, heterocyclischen Verbindungen mit 3 bis 6 Ringatomen und bis zu vier Heteroatomen,

25

aromatischen Verbindungen mit bis zu 8 Ringatomen, welche gegebenenfalls mit Cyano-, Hydroxy-, kurzkettigen C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl-, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-, Nitro-, Amino-, monosubstituierten

30

Amino-, Trihalogenalkyl- und/oder Halogen-Resten substituiert sind und

Heteroarylen mit 3 bis 7 Ringatomen und bis zu vier Heteroatomen.

5

Besonders bevorzugt ist es dabei, daß der Grundkörper R ausgewählt ist aus Einfachbindung, Methyl, Ethan, Ethen, Ethin, Propan, Isopropan, Butan, Isobutan, sec-Butan, Pentan, Isopentan, Neopentan, Hexan, Azin, Cylopropan, Cyclobutan, Cyclopantan, Cyclohexan, Cycloheptan, Cyclooctan, Pyrrol, Pyrrolin, Pyrrolidin, Imidazol, Imidazolin, Pyrazolidin, Thiazol, Thiazolin, Thiazolidin, Isothiazol, Isothiazolin, Isothiazolidin, Benzothiazol, Furan, Dihydropuran, Tetrahydrofuran, Benzofuran, Thiophen, Benzothiophen, Oxazol, Oxazolin, Oxazolidin, Benzoazol, Isoxazol, Isoxazolin, Isoxazolidin, Piperidin, Piperazin, Pyrimidin, Morpholin, Dihydropyran, Tetrahydropyran, Pyridazin, Benzol, Furoxan, Imidazol, Imidazolin, Imidazolidin, Pyrazol, Pyrazolin, Pyrazolidin, Pyridin und dessen N-Oxid, Dihydropyridin, Pyrimidin, Pyrazin. Dabei ist klar, daß die jeweiligen Heteroatome an beliebigen Stellen im Ring positioniert sind.

Weiterhin bevorzugt ist es, daß R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> unabhängig von einander Wasserstoffatome sind oder einen Rest -CONH<sub>2</sub> darstellen.

Ganz besonders bevorzugt sind

2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (6),

30 1,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (7),

1,4-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-benzol (8),

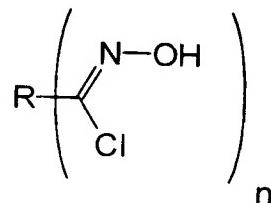
1,3-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (9),

1,3,5-Tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (10),

35 1,3-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-benzol (11),

- 2,6-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-pyridin (12),  
 3,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (13),  
 2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (14),  
 5 2,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (15),  
 2,5,-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)furan (16),  
 3,4-Bis-[ (aziridinyl-1)-hydroxyiminomethyl]furoxan (17),  
 Bis-(2-methoxycarbonylaziridino)glyoxim (18),  
 Bis-(2-carbamoylaziridino)glyoxim (19),  
 10 2,2'-Azinobis(1-aziridino-1-hydroxyimino)propan (20) und  
 2,2'-Azinobis[1-(2-carbamoylaziridino)-1-hydroxyimino]propan (21).

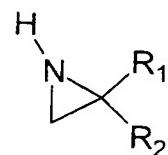
15 Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von erfindungsgemäßen 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivaten, wobei man in an sich bekannter Weise eine Halogenverbindung der allgemeinen Formel II



20

II

worin R und n die oben angegebene Bedeutung haben, mit einem Aziridin-Derivat der allgemeinen Formel III

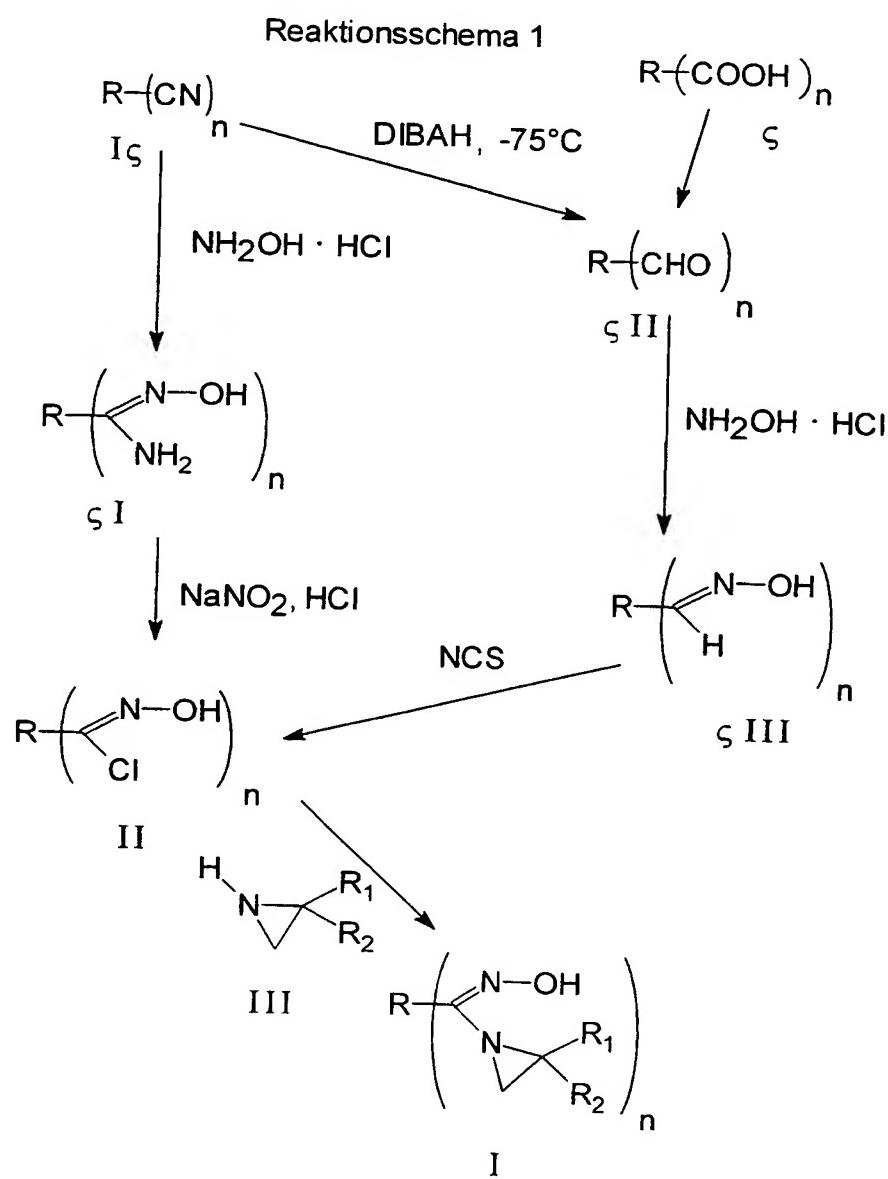


III

25

worin R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> die oben angegebene Bedeutung haben, umsetzt.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I lassen sich nach dem Formelschema 1 in an sich bekannter Weise herstellen. Zu diesem Zweck werden Nitrile der allgemeinen Formel IV durch Reaktion mit Hydroxylamin-Hydrochlorid in die Carboxamidoxime der allgemeinen Struktur VI überführt. Durch Diazotierung im salzauren Milieu werden die chlorierten Oxime der Struktur II erhalten, die anschließend durch Reaktion mit Aziridinen der Formel III in die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I überführt werden können. Alternativ kann, wie im Formelschema 1 angegeben, die Synthese ausgehend von den Carbonsäuren V über in der Literatur beschriebene Standardverfahren durchgeführt werden. Das experimentelle Verfahren ist für die Sequenz IV → VI → II → I in den Beispielen angegeben.



Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind  
Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einer  
5 Verbindung gemäß der allgemeinen Formel I.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind auch Arznei-  
mittel zur oralen, rektalen, subcutanen, intravenösen o-  
der intramuskulären Applikation, die neben üblichen Trä-  
ger- und Verdünnungsmitteln eine Verbindung der allge-  
meinen Formel I als Wirkstoff enthalten.  
10

Geeignete Zubereitungsformen und deren Herstellung sind an sich bekannt und beispielsweise beschrieben in „Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis“, Springer Verlag -  
5 Berlin - Heidelberg, 1991, Band 2, S. 622ff.

Die Arzneimittel der Erfindung werden mit den üblichen festen oder flüssigen Trägerstoffen oder Verdünnungsmitteln und den üblicherweise verwendeten pharmazeutisch-  
10 technischen Hilfsstoffen entsprechend der gewünschten Applikationsart mit einer geeigneten Dosierung in bekannter Weise hergestellt. Die bevorzugten Zubereitungen bestehen in einer Darreichungsform, die zur oralen Applikation geeignet ist. Solche Darreichungsformen sind beispielsweise  
15 Tabletten, Filmtabletten, Dragees, Kapseln, Pillen, Pulver, Lösungen oder Suspensionen oder Depotformen.

Selbstverständlich kommen auch parenterale Zubereitungen wie Injektionslösungen in Betracht. Weiterhin seien als  
20 Zubereitungen beispielsweise auch Suppositorien genannt.

Entsprechende Tabletten können beispielsweise durch Mischen des Wirkstoffs mit bekannten Hilfsstoffen, beispielsweise inerten Verdünnungsmitteln wie Dextrose, Zucker, Sorbit, Mannit, Polyvinylpyrrolidon, Sprengmitteln wie Maisstärke oder Alginsäure, Bindemitteln wie Stärke oder Gelantine, Gleitmitteln wie Magnesiumstearat oder Talk und/oder Mitteln zur Erzielung eines Depoteffektes wie Carboxyldimethylcellulose, Celluloseacetatphthalat oder Polyvinylacetat, erhalten werden.  
25 Die Tabletten können auch aus mehreren Schichten bestehen.  
30

Entsprechend können Dragees durch Überziehen von analog den Tabletten hergestellten Kernen mit üblicherweise in Drageeüberzügen verwendeten Mitteln, beispielsweise Poly-

vinylpyrrolidon oder Schellack, Gummiarabicum, Talk, Titaendioxid oder Zucker, hergestellt werden. Dabei kann auch die Drageehülle aus mehreren Schichten bestehen, wobei die oben bei den Tabletten erwähnten Hilfsstoffe verwendet werden können.

Lösungen oder Suspensionen mit dem erfindungsgemäßen Wirkstoff können zusätzlich geschmacksverbessernde Mittel wie Saccharin, Cyclamat oder Zucker sowie z. B. Aromastoffe wie Vanillin oder Orangenextrakt enthalten. Sie können außerdem Suspendierhilfsstoffe wie Natriumcarboxymethylcellulose oder Konservierungsstoffe wie p-Hydroxybenzoate enthalten. Wirkstoffe enthaltende Kapseln können beispielsweise hergestellt werden, indem man den Wirkstoff mit einem inerten Träger wie Milchzucker oder Sorbit mischt und in Gelatinekapseln einkapselt.

Geeignete Suppositorien lassen sich beispielsweise durch Vermischen mit dafür vorgesehenen Trägermitteln wie Neutralfetten oder Polyäthylenglykol bzw. deren Derivaten herstellen.

Selbstverständlich kommen auch transdermale therapeutische Systeme (TTS) in Betracht.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel I zeigen antitumorale Wirksamkeit. In der Tabelle 1 sind die antitumoralen Aktivitäten einiger erfindungsgemäßer Verbindungen im Monolayer-Zytoxitätstest an ausgewählten Zelllinien dargestellt. Überraschend ist dabei die geringe Empfindlichkeit von Fibroblasten und Endothelzellen bei der Anwendung der erfindungsgemäßen Verbindungen

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher die Verwendung der 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß der allgemeinen Formel

I zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.

5 Gegenstand ist aber auch die Verwendung der 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß der allgemeinen Formel I zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.

10 Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung von 1,1'-(1,2-bis-(Hydroximino)-)-1,2-ethandiyl]bis-aziridin (1) zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen sowie die von 1,1'-(1,2-bis-(Hydroximino)-)-1,2-ethandiyl]bis-aziridin (1) zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.  
15

Tabelle 1:

Antitumorale Wirksamkeit ausgewählter erfindungsgemäßer Verbindungen

20

Substanz IC <sub>50</sub> [µg/ml]	<u>1</u>	<u>6</u>	<u>14</u>	<u>7</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>16</u>
Organ/Zelllinie							
Kolon HT29	0.486	0.117	0.200	0.258	0.329	0.670	0.481
Magen GXF 251L	0.781	0.020	0.717	0.542	1.506	3.964	1.661
Lunge LXFL 529	0.441	0.027	0.006	0.038	0.063	0.100	0.099
Brust 401NL	0.040	0.207	0.011	0.018	0.060	0.043	0.039
Niere 944LL	0.923	0.115	0.198	0.348	0.788	0.750	1.359
Uterus 1138L	0.173	0.014	0.034	0.038	0.066	0.111	0.073

Von der erfindungsgemäßen Verbindung 6 wurden an insgesamt 12 Zelllinien (Tabelle 3) die mittleren IC<sub>50</sub>-Werte im Vergleich zum Therapiestandard 5-Fluor-Uracil ermittelt  
25 (5FU) (siehe Tabelle 2).

Aus diesen Werten geht eine deutliche Überlegenheit der erfundungsgemäßen Verbindung gegenüber dem Therapiestandard hervor.

5 Tabelle 2

Vergleich der antitumoralen Wirkung von (6) mit dem Therapiestandard 5-Fluoruracil (5FU)

<b>Verbindung</b>	<b>IC<sub>50</sub> [µg/ml]</b>
(6)	0,030
5FU	0,054

Tabelle 3

10 Verwendete Tumorzelllinien

<b>Tumor</b>	<b>Zelllinie</b>
Brust	MAXF 401NL MCF-7
Kolon	HT29
Magen	GXF251L
Lunge	LXFA 629L LXFE66L LXFL529
Melanom	MEXF 462NL MEXF 514L
Eierstock	OVCAR3
Niere	RXF 944L
Uterus	UXF 1138L

Die nachfolgende Beispiele erläutern die Erfindung.

Beispiele

15

Beispiel 1

Darstellung von 2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyimino-methyl)pyridin (6)

20 Pyridin-2,6-dicarboxamidoxim

Zu einer Lösung von Hydroxylamin-Hydrochlorid (18,07 g; 26 mmol) und NaOH (10,40 g; 26 mmol) in H<sub>2</sub>O (90 ml) wird unter starkem Rühren eine Lösung von Pyridin-2,6-dicarbonitril (12,9 g; 10mmol) in Ethanol (60 ml) getropft. Eine exotherme Reaktion tritt ein, anschließend wird 1,5 h bei 40-50°C weitergerührt. Nach Abkühlen wird der Niederschlag abfiltriert und mit H<sub>2</sub>O gewaschen. Man erhält nach dem trocknenen 16,5 g (85% d. Tr.) Produkt. M.p. 237-239°C. <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ 6,20 (4H, s, NH<sub>2</sub>); 7,76 (3H, s, C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>N); 9,76 (2H, s, OH), -CHN (%) gef.: C 43,6; H 4,5; N 35,9-ber: C 43,1; H 4,6; N 35,9.

#### Pyridin-2,6-dihydroxamic-dichlorid

Zu einer gekühlten Lösung von Pyridin-2,6-dicarboxamidoxim (1,95 g; 10 mmol) in verdünnter HCl (20 ml conc. HCl + 8 ml H<sub>2</sub>O) wird unter Rühren vorsichtig eine Lösung von NaNO<sub>2</sub> (1,78 g; 25 mmol) in H<sub>2</sub>O (5 ml) getropft. Nach 1,5 h bei 0-10°C wird die Lösung 12h bei Raumtemperatur weiter gerührt. Anschließend wird der Niederschlag abfiltriert und mit H<sub>2</sub>O gewaschen. Nach dem Trocknen erhält man 2,0 g (79% d. Tr.) Produkt. M.p. 168-170°C (Zers.).- <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-D<sub>6</sub>): δ 8,00 (3H, s, C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>N); 12,7 (2H, s, OH).- CHN (%) gef. C 33,7; H 2,2; N 16,6 - ber.: C 33,3; H 2,2; N 16,7.

#### 2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (6)

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von Aziridin (0,65 g; 15 mmol) und N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub> (2,0 g; 20mmol) in Acetonitril (20 ml) wird unter Rühren tropfenweise eine Suspension von Pyridin-2,6-dihydroxamicdichlorid (1,26 g; 5 mmol) in CH<sub>3</sub>CN (20 ml) gegeben. Man röhrt 90 min. nach und filtert vom ausgefallenen Triethylamin-Hydrochlorid ab. Das Filtrat wird im Vakuum eingeengt und mit Essigester versetzt. Man filtriert erneut und wäscht das Produkt mit CHCl<sub>3</sub>. Man erhält 0,76 g (60% d. Tr.) an Produkt. M.p. 194-196°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,31 (8H, s, CH<sub>2</sub>); 7,73 (3H,

s, C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>N); 10,64 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 52,4; H 5,3; N 27,5 (C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> x 0,25 H<sub>2</sub>O) - ber.: C 52,5; H 5,4; N 27,8.

- 5 In analoger Weise erhält man die folgenden Verbindungen:

Beispiel 2

1,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (7)  
M.p. 220-222°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,20 (8H, s, CH<sub>2</sub>); 7,00  
10 (4H, s, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 12,6 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 58,3; H 5,9; N 22,4 (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) - ber.: C 58,5; H 5,7; N 22,7.

Beispiel 3

1,4-Di-(α-2-carbamoylaziridino-α-hydroxyiminomethyl)-  
15 benzol (8)  
M.p. 248-250°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,36 (4H, s, CH<sub>2</sub>); 2,82  
(2H, m, CH); 7,16 und 7,47 (jeweils 2H, s, s, NH<sub>2</sub>); 7,64  
(4H, s, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>); 10,6 (2H, s OH). CHN (%) gef.: C 50,3; H 4,9; N 24,9 (C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>) - ber.: C 50,6; H 4,8; N 25,3.

Beispiel 4

1,3-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (9)  
M.p. 179-181°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,17 (8H, s, CH<sub>2</sub>); 7,31  
25 (1H, t, C<sub>6</sub>H); 7,62 (2H, d, C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>); 8,11 (1H, s, C<sub>6</sub>H); 11,3  
(2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 58,7; H 5,8; N 22,3 (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) - ber.: C 58,5; H 5,7; N 22,7.

Beispiel 5

1,3,5-Tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (10)  
30 M.p. >300°C (Zers.). <sup>1</sup>H-NMR: δ 2,16 (12H, s, CH<sub>2</sub>); 8,00  
(3H, s, C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>); 11,4 (3H, s, OH). CHN (%) gef.: C 54,1; H 5,4; N 25,0 (C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>) - ber.: C 54,5; H 5,5; N 25,4.

Beispiel 6

1,3-Di-(α-2-carbamoylaziridino-α-hydroxyiminomethyl)-  
35 benzol (11)

M.p. 209-211°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ : δ 2,38 (4H, m,  $\text{CH}_2$ ); 3,02 (2H, m, CH); 7,16 und 7,42 (jeweils 2H, s, s,  $\text{NH}_2$ ); 7,42 (1H, t,  $\text{C}_6\text{H}$ ); 7,91 (1H, t,  $\text{C}_6\text{H}$ ); 10,6 (2H, m, OH). CHN (1H, t,  $\text{C}_6\text{H}$ ); 7,91 (1H, t,  $\text{C}_6\text{H}$ ); 10,6 (2H, m, OH). CHN (1H, t,  $\text{C}_6\text{H}$ ); 7,91 (1H, t,  $\text{C}_6\text{H}$ ); 10,6 (2H, m, OH). CHN (%) gef.: C 45,9; H 5,3; N 22,8 ( $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ ) - ber.: (%) gef.: C 45,9; H 5,3; N 22,8. C 45,6; H 5,5; N 22,8.

5

Beispiel 7

2,6-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-pyridin (12)

M.p. 206-208°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ : δ 2,38 (4H, m,  $\text{CH}_2$ ); 2,96 (2H, m, CH); 7,11 und 7,40 (jeweils 2H, ss,  $\text{NH}_2$ ); 7,76 (3H, s,  $\text{C}_5\text{H}_3\text{N}$ ); 10,78 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 46,6; H 4,6; N 29,0 ( $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_7\text{O}_4$ ) - ber.: C 46,8; H 4,5; N 29,4.

15

Beispiel 8

3,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (13)

3,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (13)  
M.p. >300°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ : δ 2,27 (8H, s,  $\text{CH}_2$ ); 8,29 (1H, t, 4- $\text{C}_5\text{HN}$ ); 8,78 (2H, d, 2,6- $\text{C}_5\text{H}_2\text{N}$ ); 11,7 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 53,7; H 5,1; N 28,2 ( $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$ ) - ber.: C 53,4; H 5,3; N 28,3.

20

Beispiel 9

2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (14)

2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (14)  
M.p. 190-192°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ : δ 2,22 (4H, s,  $\text{CH}_2$ ); 2,26 (4H, s,  $\text{CH}_2$ ); 7,76 (1H, d,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 7,96 (1H, d,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 8,78 (1H, s,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 11,7 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 53,8; H 5,2; N 28,0 ( $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$ ) - ber.: C 53,4; H 5,3; N 28,3.

30

Beispiel 10

2,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (15)

2,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin (15)  
M.p. >300°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ : δ 2,20 (8H, s,  $\text{CH}_2$ ); 7,53 (1H, dd,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 8,16 (1H, d,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 8,51 (1H, d,  $\text{C}_5\text{HN}$ ); 11,6 (1H, s, OH); 11,8 (1H, s, OH). CHN (%) gef.: C 53,4; H 5,5; N 28,0 ( $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$ ) - ber.: C 53,4; H 5,3; N 28,3.

35

Beispiel 11

5      2,5,-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)furan (16)  
       M.p. 182-184°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  2,22 (8H, s,  $\text{CH}_2$ ); 6,78  
       (2H, s,  $\text{C}_4\text{H}_2\text{O}$ ); 10,5 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 47,3; H  
       5,6; N 22,1 ( $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4$ ) - ber.: C 47,2; H 5,6; N 22,0.

Beispiel 12

10     3,4-Bis-[ (aziridinyl-1)-hydroxyiminomethyl]furoxan (17)  
       M.p. >300°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  2,18 (4H, s,  $\text{CH}_2$ ); 2,43  
       (4H, s,  $\text{CH}_2$ ); 11,1 (1H, s, OH); 11,4 (1H, s, OH). CHN (%)  
       gef.: C 38,2; H 4,2; N 32,9 ( $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_6\text{O}_4$ ) - ber.: C 37,8; H  
       4,0; N 33,1.

Beispiel 13

15     Bis-(2-methoxycarbonylaziridino)glyoxim (18)  
       M.p. 212-214°C.  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  2,36 (4H, m,  $\text{CH}_2$ ); 2,96 (2H, m,  
        $\text{CH}$ ); 3,62 (6H, s,  $\text{CH}_3$ ); 10,71 (2H, s, OH). CHN (%) gef.:  
       C 42,3; H 5,0; N 19,3 ( $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_6$ ) - ber.: C 42,0; H 4,9; N  
       19,6.

20     Beispiel 14

Bis-(2-carbamoylaziridino)glyoxim (19)  
       M.p. >300°C.  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  2,28 (1H, m,  $\text{CH}$ ); 2,40 (1H, m,  
        $\text{CH}$ ); 2,83 (1H, m,  $\text{CH}$ ); 7,09 und 7,24 (jeweils 1H, s, s,  
        $\text{NH}_2$ ); 10,65 (1H, s, OH). CHN (%) gef.: C 37,1; H 4,8; N  
       32,1 ( $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_4$ ) - ber.: C 37,5; H 4,7; N 32,8.

Beispiel 15

30     2,2'-Azinobis(1-aziridino-1-hydroxyimino)propan (20)  
       M.p. 172-174°C.  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  1,91 (6H, s,  $\text{CH}_3$ ); 2,20 (8H, s,  
        $\text{CH}_2$ ); 10,9 (2H, s, OH). CHN (%) gef.: C 46,4; H 4,5; N  
       32,2 ( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_2$  x 0,5  $\text{H}_2\text{O}$ ) - ber.: C 46,0; H 6,6; N 32,2.

Beispiel 16

35     2,2'-Azinobis[1-(2-carbamoylaziridino)-1-hydroxyimino]-  
       propan (21)

M.p. 242-244°C (Zers.).  $^1\text{H-NMR}$ :  $\delta$  1,98 (6H, s,  $\text{CH}_3$ ); 2,53 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ); 2,53 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ); 2,89 (2H, m,  $\text{CH}$ ); 7,04 (2H, s,  $\text{CH}_2$ ); 7,22 (jeweils 2H, ss,  $\text{NH}_2$ ); 11,02 (2H, s, OH). CHN und (%) gef.: C 41,6; H 5,4; N 32,1 ( $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_8\text{O}_4 \times 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ ) - ber.: C 41,5; H 5,5; N 32,3.

5

### Beispiel 19

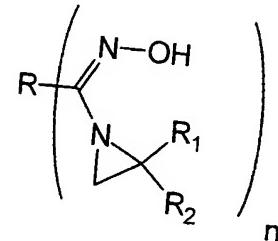
Zur Untersuchung der antiproliferativen Eigenschaften der erfindungsgemäßen Verbindungen wurde ein modifizierter Propidium-Iodid-Assay (Dengler, W.A., Schulte, J., Berger, P.B., Mertelmann, R., Fiebig, H.H.: Anti-Cancer Drugs 6, 522-532, (1995)) wie nachfolgend beschrieben durchgeführt:

15 Tumorzellen aus in der exponentiellen Wachstumsphase befindlichen Zellkulturen, (RPMI Medium, 10% FCS) wurden geerntet, gezählt und in 96 well Microtiterplatten (140 $\mu\text{L}$  Zell Suspension, 1x10<sup>5</sup> oder 5x10<sup>4</sup> Zellen/mL) überführt. Nach einer Zeitspanne von 24 h, in der die Zellen ihr exponentielles Wachstum wieder aufnahmen, wurden jeweils 20 10 $\mu\text{L}$  der in Medium gelösten Testsubstanzen zugefügt (Jede Testkonzentration wurde dreifach bestimmt). Nach 3-6 Tagen Inkubationszeit (in Abhängigkeit von der Verdoppelungsrate der Zellen) wurde das Kulturmedium gegen 200  $\mu\text{L}$  eines frischen Mediums, welches Propidium- Iodid (25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) enthielt, ausgetauscht. Die Mikrotiterplatten wurden dann 24 Stunden bei -18°C gelagert, um einen kompletten Zelltod zu erreichen. Nach dem Auftauen der Platten wurde die Fluoreszenz mittels eines Millipore Cytoflour 2350 (Anregung 530 nm, Emission 620 nm) gemessen. Die IC<sub>50</sub>-Werte 25 der Testverbindungen wurden gemäß der publizierten Formel berechnet. Konnte eine IC<sub>50</sub> nicht innerhalb der untersuchten Dosis Einheiten bestimmt werden, wurde die jeweils niedrigste bzw. höchste untersuchte Konzentration 30 für die Kalkulation benutzt.

35

## Patentansprüche

5 1. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate der allge-  
meinen Formel I



I

10 worin

R einen beliebigen organischen Rest bedeutet, der  
in der Lage ist, zwei Aziridinoxim-Gruppierungen  
kovalent zu binden,

15 R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> unabhängig voneinander für ein Wasser-  
stoffatom oder eine -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH,  
-COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> oder -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> Gruppe stehen,  
20 n die ganze Zahl 2 ist.

2. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß An-  
spruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R ein beliebi-  
ger organischer Rest ist, der ausgewählt ist aus  
25 einer Einfachbindung, linearen oder verzweigten und  
gesättigten oder ungesättigten Alkanen oder Heteroal-  
kanen mit bis zu 6 C-Atomen und mit bis zu vier Hete-  
roatomen, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkanen, welche gegebenenfalls  
30 mit kurzkettigen C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl-, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-, Nitro-,

Amino-, monosubstituierten Amino-, und/oder Halogen-Resten substituiert sind,

5 heterocyclischen Verbindungen mit 3 bis 6 Ringatomen und bis zu vier Heteroatomen,

10 aromatischen Verbindungen mit bis zu 8 Ringatomen, welche gegebenenfalls mit Cyano-, Hydroxy-, kurzkettige C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl-, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkoxy-, Nitro-, Amino-, monosubstituierten Amino-, Trihalogenalkyl- und/oder Halogen-Resten substituiert sind und

15 Heteroarylen mit 3 bis 7 Ringatomen und bis zu vier Heteroatomen.

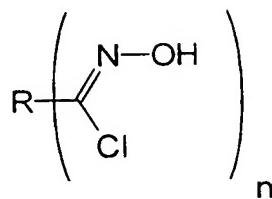
15 3. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Grundkörper R ausgewählt ist aus Einfachbindung, Methyl, Ethan, Ethen, Ethin, Propan, Isopropan, Butan, Isobutan, sec-Butan, Pentan, Isopentan, Neopentan, Hexan, Azin, Cyclopropan, Cyclobutan, Cyclopantan, Cyclohexan, Cycloheptan, Cyclooctan, Pyrrol, Pyrrolin, Pyrrolidin, Imidazol, Imidazolin, Pyrazolidin, Thiazol, Thiazolin, Thiazolidin, Isothiazol, Isothiazolin, Isothiazolidin, Benzothiazol, Furan, Dihydropuran, Tetrahydrofuran, Benzofuran, Thiophen, Benzothiophen, Oxazolidin, Oxazolin, Oxazolidin, Benzoxazol, Isoxazol, Isoxazolin, Isoxazolidin, Piperidin, Piperazin, Pyrimidin, Morpholin, Dihydropyran, Tetrahydropyran, Pyridin, Imidazol, Imidazolin, Benzol, Furoxan, Pyrazol, Pyrazolin, Pyrazolidin, Pyridin und dessen N-Oxid, Dihydropyridin, Pyrimidin, Pyrazin.

30 4. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,

daß R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> unabhängig von einander Wasserstoffatome sind oder einen Rest -CONH<sub>2</sub> darstellen.

5. 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 1, nämlich  
2,6-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin  
(6),  
1,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (7),  
1,4-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-  
benzol (8),  
1,3-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol (9)  
1,3,5-Tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzol  
(10),  
1,3-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-  
benzol (11),  
2,6-Di-( $\alpha$ -2-carbamoylaziridino- $\alpha$ -hydroxyiminomethyl)-  
pyridin (12),  
3,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin  
(13),  
2,5-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin  
(14),  
2,4-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)pyridin  
(15),  
2,5,-Bis-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)furan  
(16),  
3,4-Bis-[aziridinyl-1]-hydroxyiminomethyl]furoxan  
(17),  
Bis-(2-methoxycarbonylaziridino)glyoxim (18),  
Bis-(2-carbamoylaziridino)glyoxim (19),  
2,2'-Azinobis(1-aziridino-1-hydroxyimino)propan (20)  
und  
2,2'-Azinobis[1-(2-carbamoylaziridino)-1-hydroxy-  
imino]propan (21)
- 35 6. Verfahren zur Herstellung von 1-Aziridino-1-  
hydroxyiminomethyl-Derivaten gemäß Anspruch 1, wobei

man in an sich bekannter Weise eine Halogenverbindung der allgemeinen Formel II

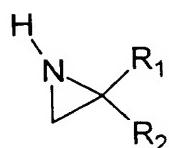


II

5

worin R und n die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben,

mit einem Aziridin-Derivat der allgemeinen Formel III



III

10

worin R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung haben, umsetzt

- 15      7. Arzneimittel, gekennzeichnet durch einen Gehalt an einer Verbindung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6.
- 20      8. Verwendung der 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren oder von Krebskrankungen.
- 25      9. Verwendung der 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate gemäß Anspruch 1 zur Behandlung von Tumoren oder von Krebskrankungen.

10. Verwendung von 1,1'-[1,2-bis-(Hydroximino)-]-1,2-ethandiyl]bis-aziridin zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.

5

11. Verwendung von 1,1'-[1,2-bis-(Hydroximino)-]-1,2-ethandiyl]bis-aziridin zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen.

(12) NACH DEM VERTRÄG DER INTERNATIONALE ZUSAMMENART AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESES (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
29. März 2001 (29.03.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/21585 A3**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07D 203/12, 401/14, 405/14, 413/14, A61K 31/44, 31/395, 31/415, A61P 35/00

(74) Anwalt: SCHUBERT, Clemens; Joachimstrasse 9, 10119 Berlin (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE00/03441

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(22) Internationales Anmeldedatum: 22. September 2000 (22.09.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 47 440.0 24. September 1999 (24.09.1999) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): ANALYTICON DISCOVERY GMBH [DE/DE]; Hermannswerder Haus 17, 14473 Potsdam (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KALVINS, Ivars [LV/LV]; Miera Strasse 17-8, LV-2165 Salaspils (LV). ADRIANOV, Viktor [LV/LV]; Zemes Strasse 4-11, LV-1063 Riga (LV). SHESTAKOVA, Irina [LV/LV]; Spilves Strasse 7-37, LV-1055 Riga (LV). KANEPE, Iveta [LV/LV]; Zentenes Strasse 16-28, LV-1064 Riga (LV). DOMRACHEVA, Ilona [LV/LV]; Maskavas Strasse 303-86, LV-1063 Riga (LV).

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

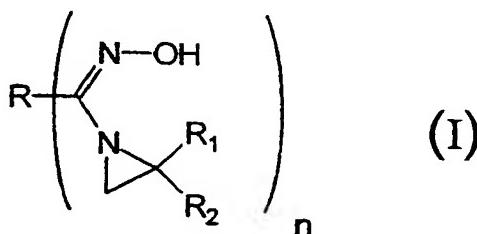
— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 11. Oktober 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: BIS(1-AZIRIDINO-1-HYDROXYIMINOMETHYL)-DERIVATIVES, METHOD FOR THE PRODUCTION THEREOF AND USE THEREOF AS ANTI-TUMORAL AGENTS

(54) Bezeichnung: BIS-(AZIRIDINO-1-HYDROXYIMINOMETHYL)-DERIVATE, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG UND DEREN VERWENDUNG ALS ANTITUMORMITTEL



(57) Abstract: Disclosed are novel 1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl derivatives of general formula (I), wherein R represents any organic group which can covalently bond to two aziridinoimine groups, R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> independently represent a hydrogen atom or a -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> or -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> group, and n stands for a whole number 2. The invention also relates to a method for the production of said compounds and pharmaceutical products containing said compounds. The compounds of general formula (I) have an anti-tumoral effect.

(57) Zusammenfassung: Beschrieben sind neue 1-Aziridino-1-hydroxyiminomethyl-Derivate der allgemeinen Formel (I), worin R einen beliebigen organischen Rest bedeutet, der in der Lage ist, zwei Aziridinoimine-Gruppierungen kovalent zu binden, R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> unabhängig voneinander für ein Wasserstoffatom oder eine -CH<sub>3</sub>, -C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CN, -COOH, -COOCH<sub>3</sub>, -COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, -CONH<sub>2</sub> oder -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> Gruppe stehen, n für eine ganze Zahl 2 steht, sowie ein Verfahren zu deren Herstellung und diese Verbindungen enthaltende Arzneimittel. Die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) zeigen antitumorale Wirkung.

WO 01/21585 A3



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/03441

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D203/12 C07D401/14 C07D405/14 C07D413/14 A61K31/44  
 A61K31/395 A61K31/415 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
 IPC 7 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

BEILSTEIN Data, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EREMEEV A.V. ET AL.: "Synthesis and investigation of aziridino dioximes" CHEMISTRY OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS (ENGL. TRANSLATION), US, PLENUM PRESS CO., NEW YORK, NY, vol. 18, no. 4, 1982, pages 369-374, XP000986399 Verbindungen IV und IX page 369 & KHIMIYA GETEROTSIKLICHESKIKH SOEDINENII , no. 4, 1982, pages 488-494, cited in the application	1-3, 6
A	WO 84 04523 A (RIJKSUNIVERSTEIT TE GRONINGEN) 22 November 1984 (1984-11-22) the whole document	1-11 -/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 March 2001

Date of mailing of the international search report

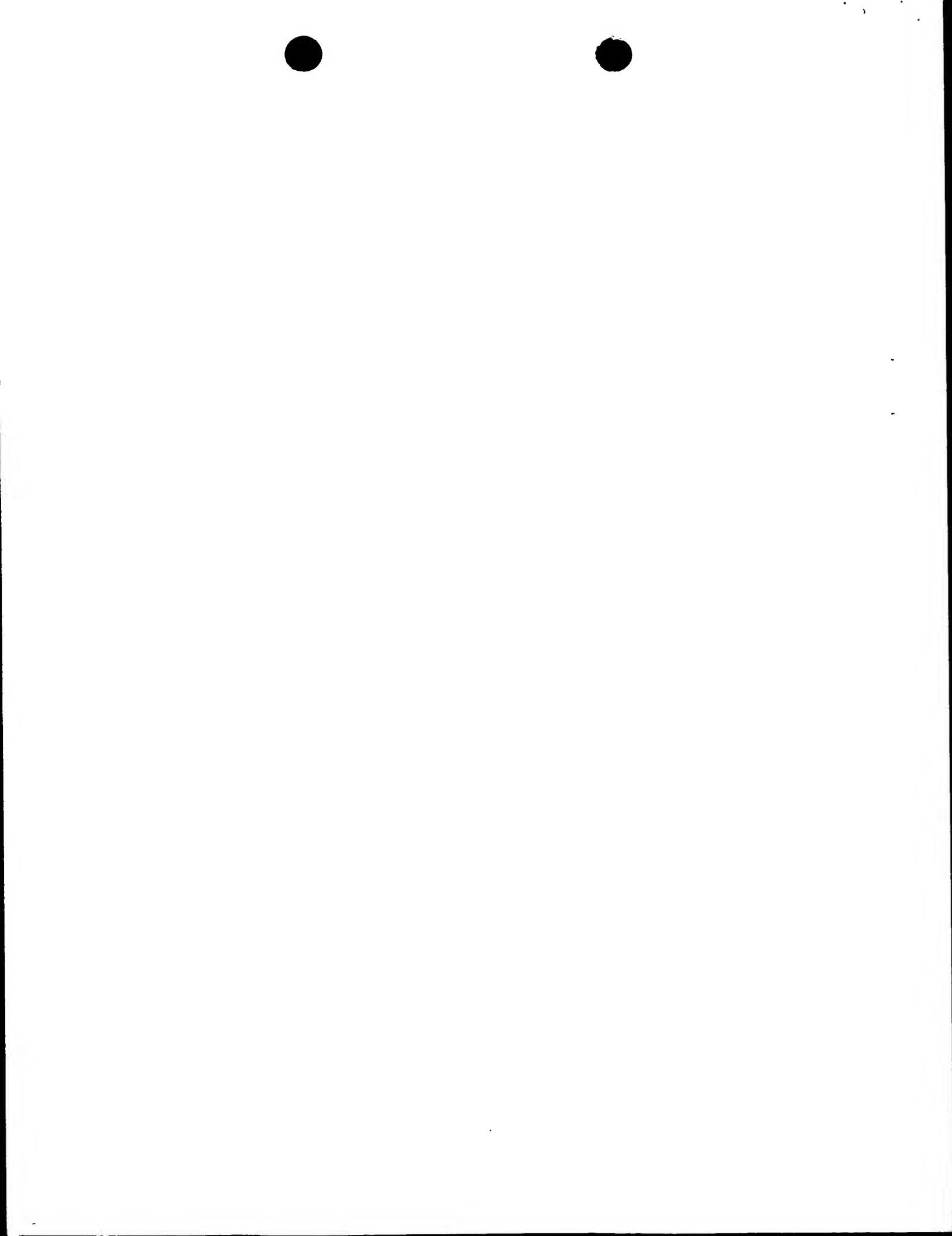
27/03/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl  
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hartrampf, G

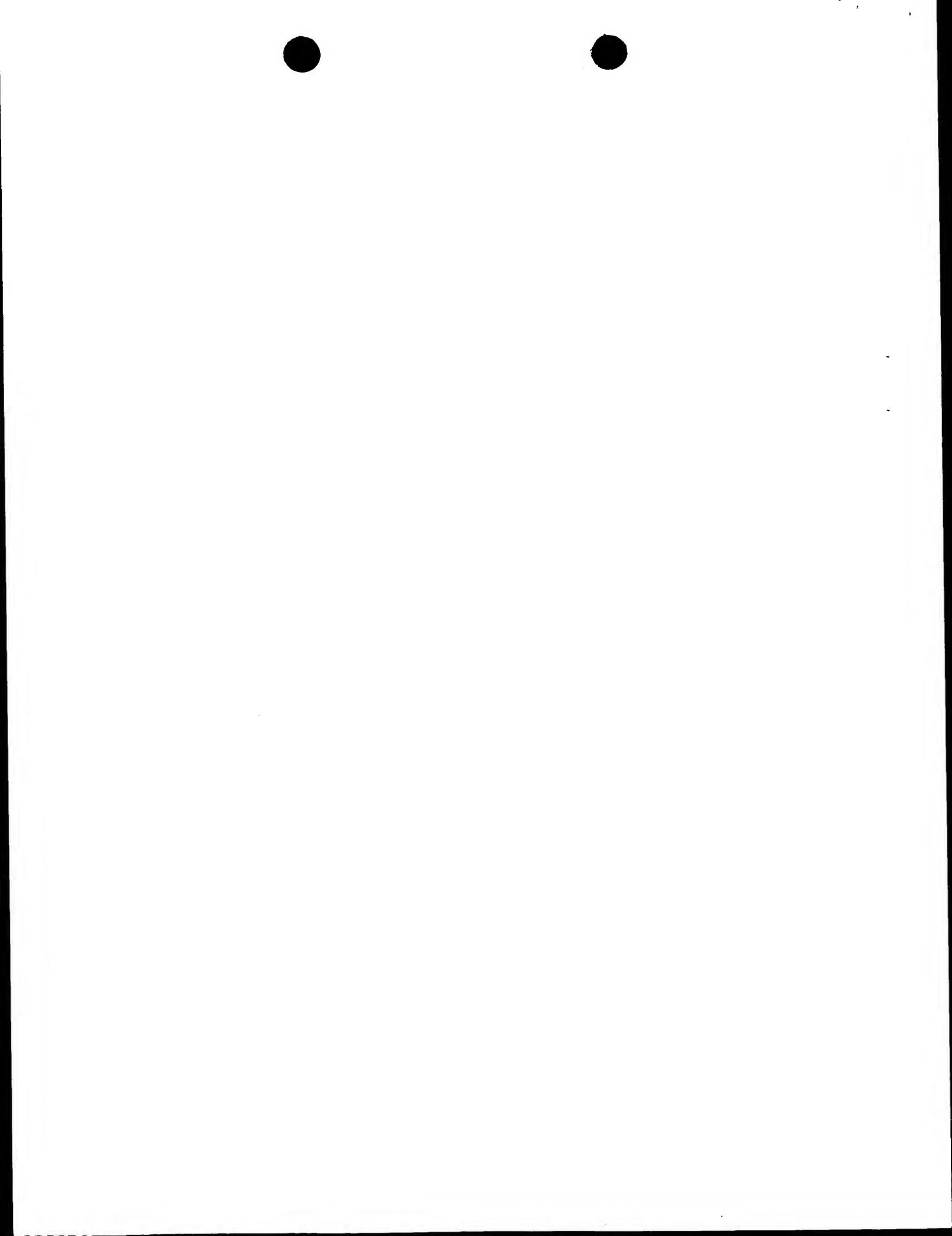


## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte  
nal Application No  
/DE 00/03441

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A.	US 4 617 398 A (BARDOS T.J. & PERLMAN M.E.) 14 October 1986 (1986-10-14) the whole document -----	1-11
A	US 4 806 531 A (SARTORELLI A.C. & LIN T.-S.) 21 February 1989 (1989-02-21) the whole document -----	1-11
A	US 5 612 329 A (CALLERY P.S. ET AL.) 18 March 1997 (1997-03-18) the whole document -----	1-11

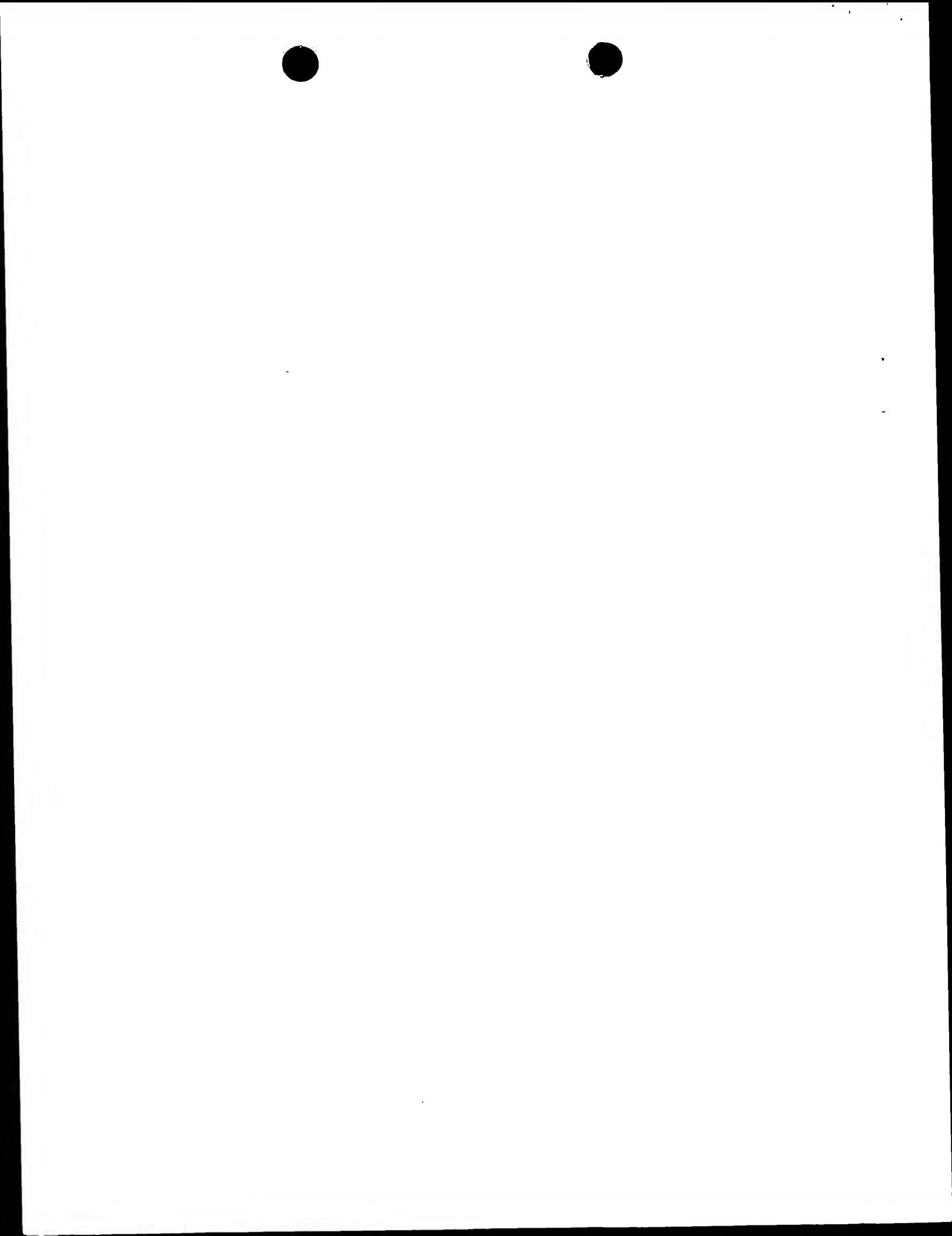


# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern.	Nat.
	Application No.
PCT/DE	03441

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 8404523	A 22-11-1984	NL	8301626 A	03-12-1984
		AU	560606 B	09-04-1987
		AU	2867984 A	04-12-1984
		DK	7485 A	07-01-1985
		EP	0142543 A	29-05-1985
		JP	60501257 T	08-08-1985
US 4617398	A 14-10-1986	US	4886790 A	12-12-1989
		US	4544501 A	01-10-1985
US 4806531	A 21-02-1989	NONE		
US 5612329	A 18-03-1997	NONE		



**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

Internationales Aktenzeichen

PCT/DE 00/03441

**A. KLASSEFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**

IPK 7 C07D203/12 C07D401/14 C07D405/14 C07D413/14 A61K31/44  
A61K31/395 A61K31/415 A61P35/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BEILSTEIN Data, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	ERE MEEV A.V. ET AL.: "Synthesis and investigation of aziridino dioximes" CHEMISTRY OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS (ENGL. TRANSLATION), US, PLENUM PRESS CO., NEW YORK, NY, Bd. 18, Nr. 4, 1982, Seiten 369-374, XP000986399 Verbindungen IV und IX Seite 369 & KHIMIYA GETEROTSIKLICHESKIKH SOEDINENII , Nr. 4, 1982, Seiten 488-494, in der Anmeldung erwähnt	1-3,6
A	WO 84 04523 A (RIJKSUNIVERSTEIT TE GRONINGEN) 22. November 1984 (1984-11-22) das ganze Dokument	1-11
	—/—	

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

21. März 2001

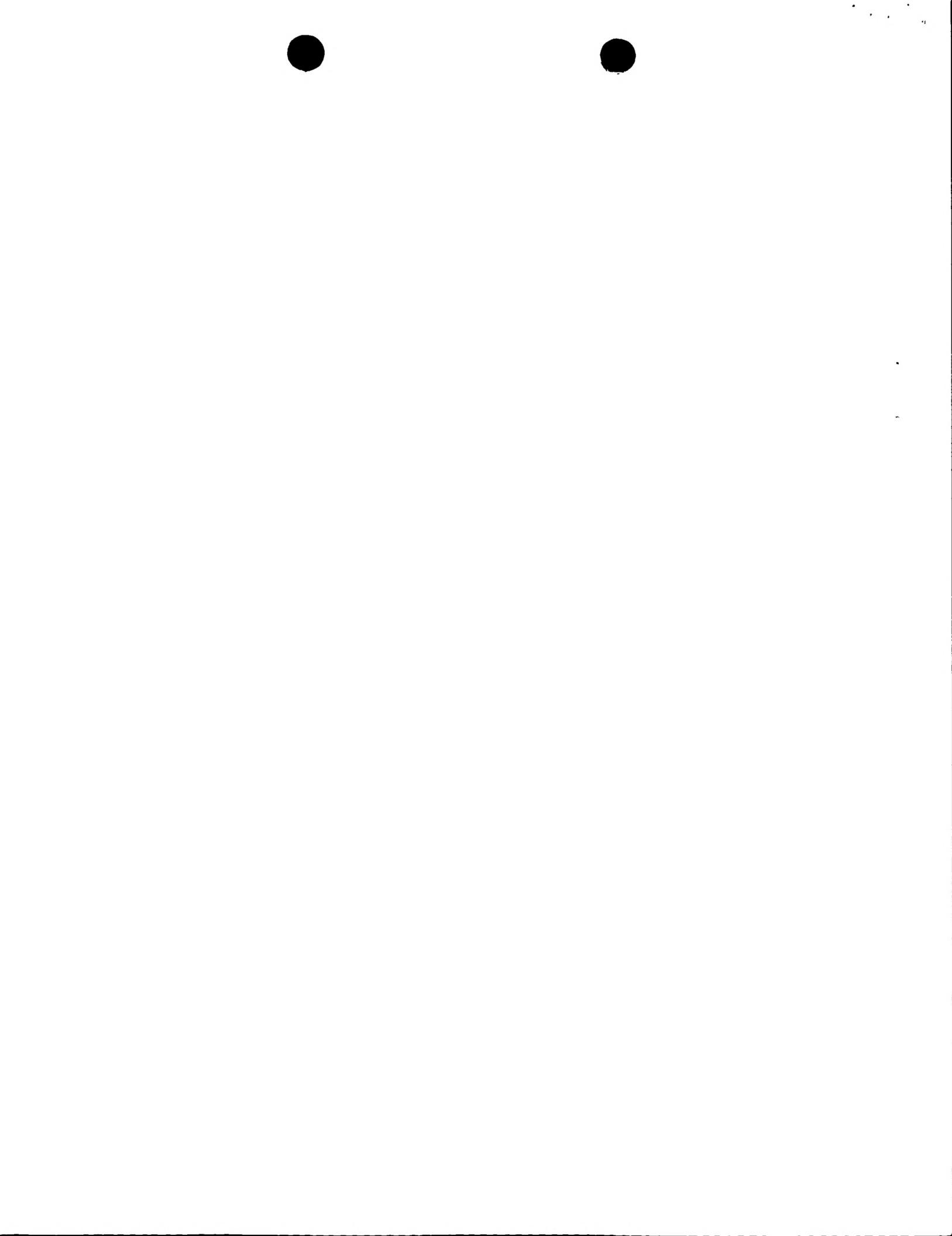
27/03/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hartrampf, G



## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

 Herr.  Frau \_\_\_\_\_  
nates Altenzeichen \_\_\_\_\_

PCT/DE 00/03441

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 617 398 A (BARDOS T.J. & PERLMAN M.E.) 14. Oktober 1986 (1986-10-14) das ganze Dokument —	1-11
A	US 4 806 531 A (SARTORELLI A.C. & LIN T.-S.) 21. Februar 1989 (1989-02-21) das ganze Dokument —	1-11
A	US 5 612 329 A (CALLERY P.S. ET AL.) 18. März 1997 (1997-03-18) das ganze Dokument —	1-11



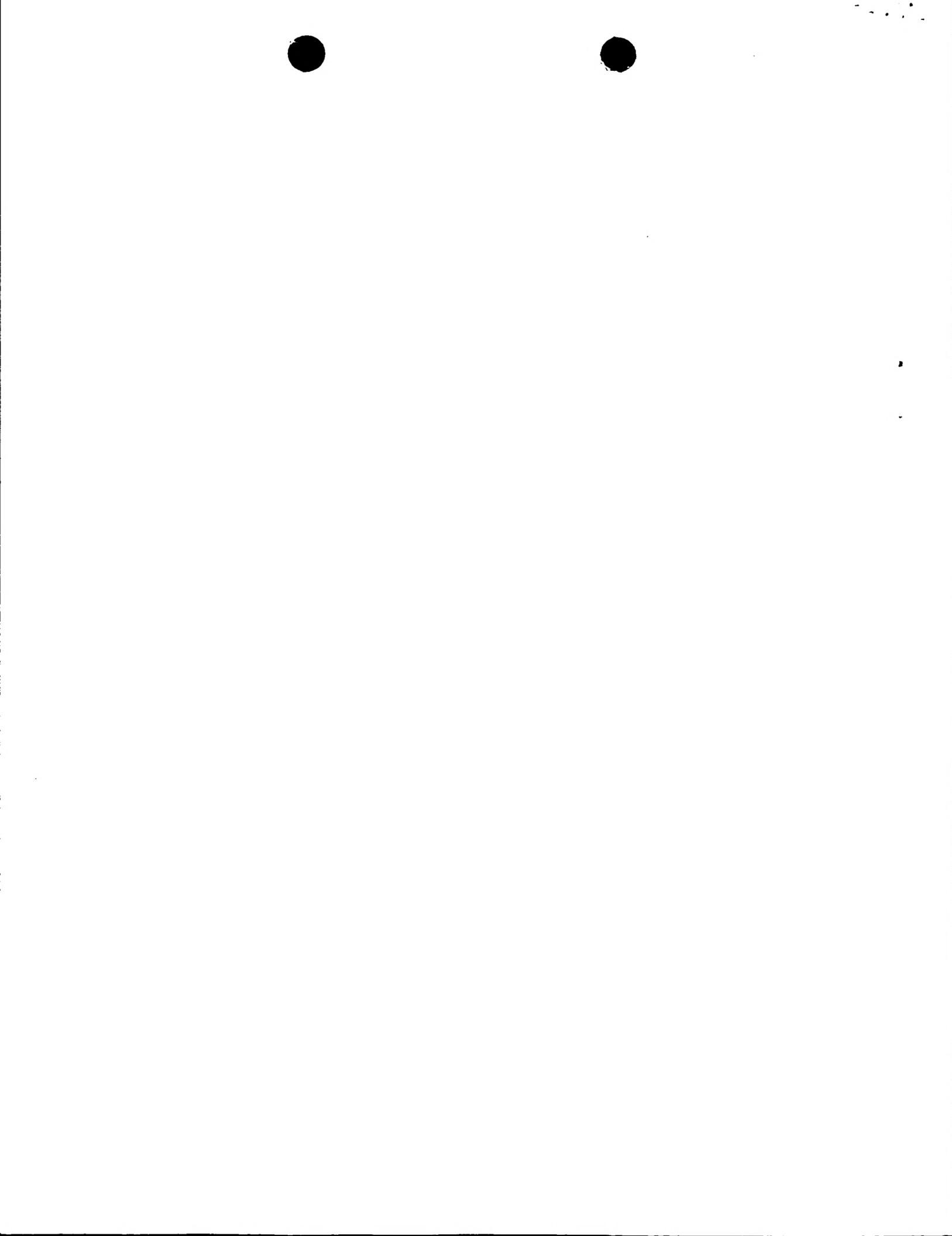
## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selbstständigen Patentfamilie gehören

Internat. Pat. Zeichen

PCT/DE 03441

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 8404523 A	22-11-1984	NL	8301626 A	03-12-1984
		AU	560606 B	09-04-1987
		AU	2867984 A	04-12-1984
		DK	7485 A	07-01-1985
		EP	0142543 A	29-05-1985
		JP	60501257 T	08-08-1985
US 4617398 A	14-10-1986	US	4886790 A	12-12-1989
		US	4544501 A	01-10-1985
US 4806531 A	21-02-1989	KEINE		
US 5612329 A	18-03-1997	KEINE		



Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

RECEIVED  
10/08/2003

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

MAY 02 2003

(PCT Article 36 and Rule 70)

TECH CENTER 1600/2900

Applicant's or agent's file reference  A01/1106/WO	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No.  PCT/DE00/03441	International filing date (day/month/year)  22 September 2000 (22.09.00)	Priority date (day/month/year)  24 September 1999 (24.09.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC  C07D 203/00		
Applicant  ANALYTICON DISCOVERY GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

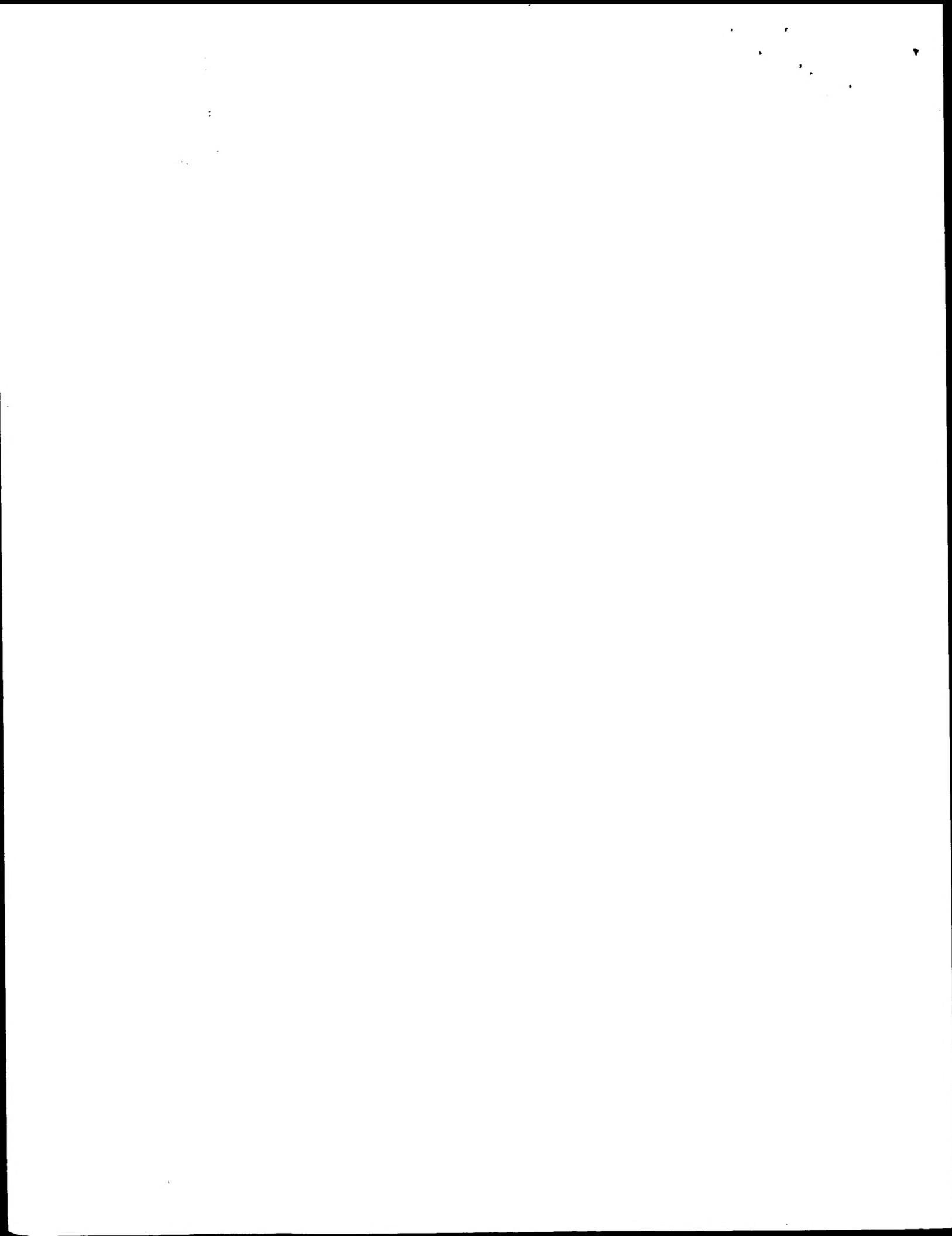
This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I  Basis of the report
- II  Priority
- III  Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV  Lack of unity of invention
- V  Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI  Certain documents cited
- VII  Certain defects in the international application
- VIII  Certain observations on the international application

Date of submission of the demand  18 April 2001 (18.04.01)	Date of completion of this report  04 December 2001 (04.12.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/DE00/03441

**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

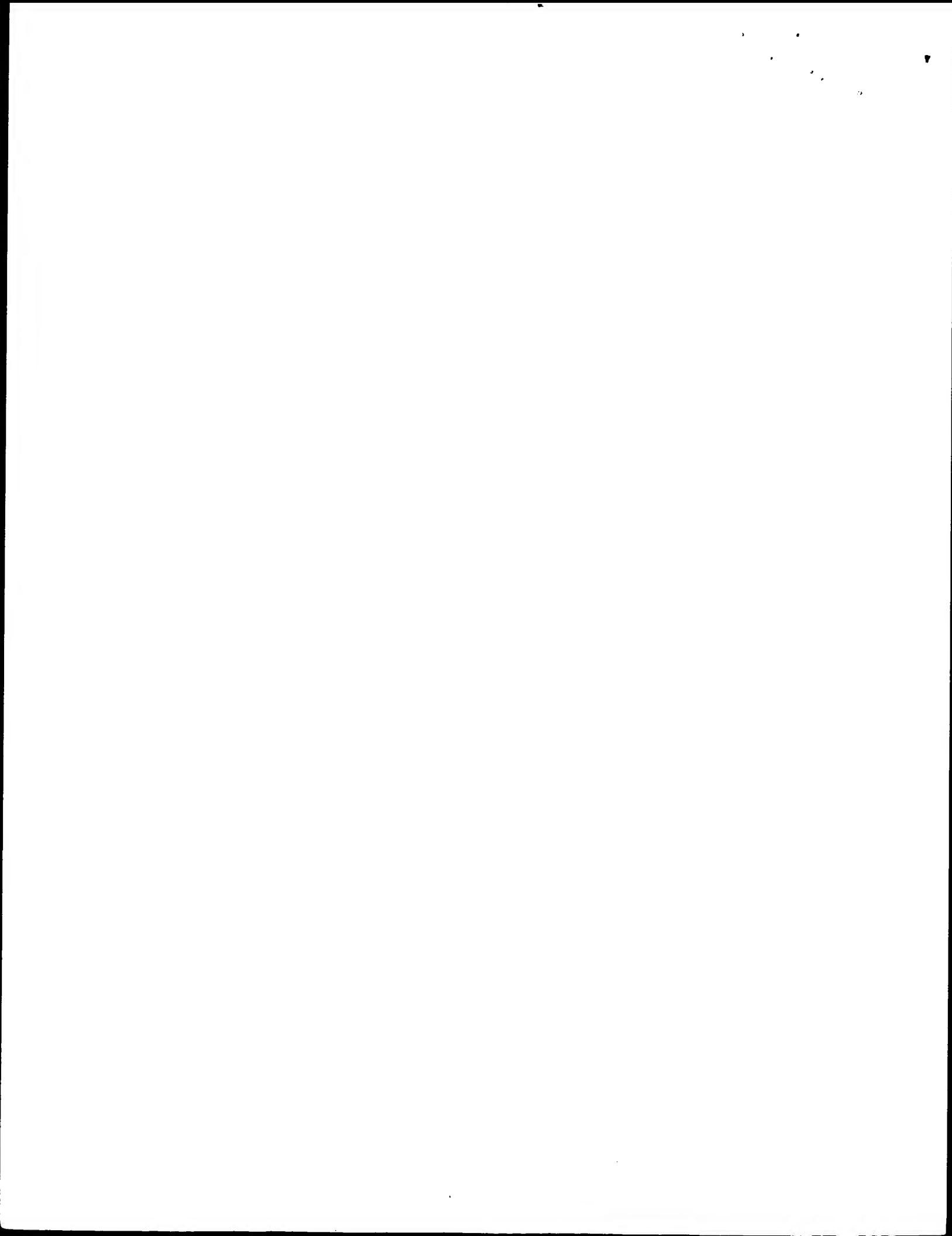
- the international application as originally filed.
- the description, pages 1-15, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- the claims, Nos. 1-11, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- the description, pages \_\_\_\_\_  
 the claims, Nos. \_\_\_\_\_  
 the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3.  This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/DE00/03441

**III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability**

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- the entire international application.
- claims Nos. 9,11.

because:

- the said international application, or the said claims Nos. 9,11 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

See Annexes

- the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

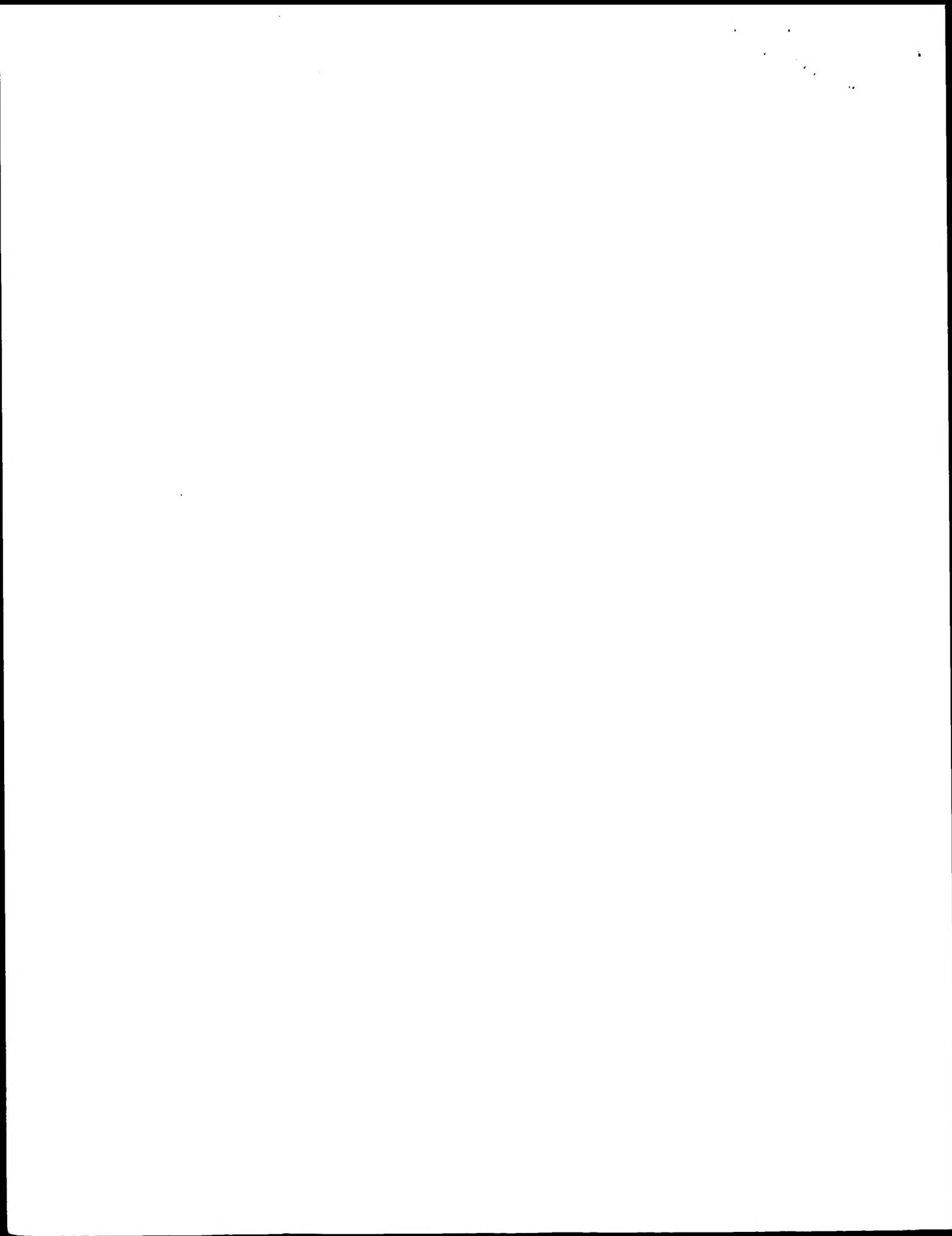
- the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.
- no international search report has been established for said claims Nos. \_\_\_\_\_



**Supplemental Box**  
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)Continuation of: **BOX III**

1. In the PCT Contracting States, there are no uniform criteria for assessing the industrial applicability of Claims 9 and 11 in their present form. Patentability can also depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the use of a compound in a medical treatment; it does, however, allow claims to the first use of a known compound in a medical treatment or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical treatment.

Claims 9 and 11 are directed to a subject matter which, in the opinion of the Examining Authority, falls under PCT Rule 67.1(iv). Consequently, no opinion is formed on the industrial applicability of the subject matter of these claims (PCT Article 34(4)(a)(i)).



**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**International application No.  
PCT/DE 00/03441**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	5, 7-11	YES
	Claims	1-4, 6	NO
Inventive step (IS)	Claims	5, 10, 11	YES
	Claims	1-4, 6-9	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-8, 10	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations****1. PRIOR ART**

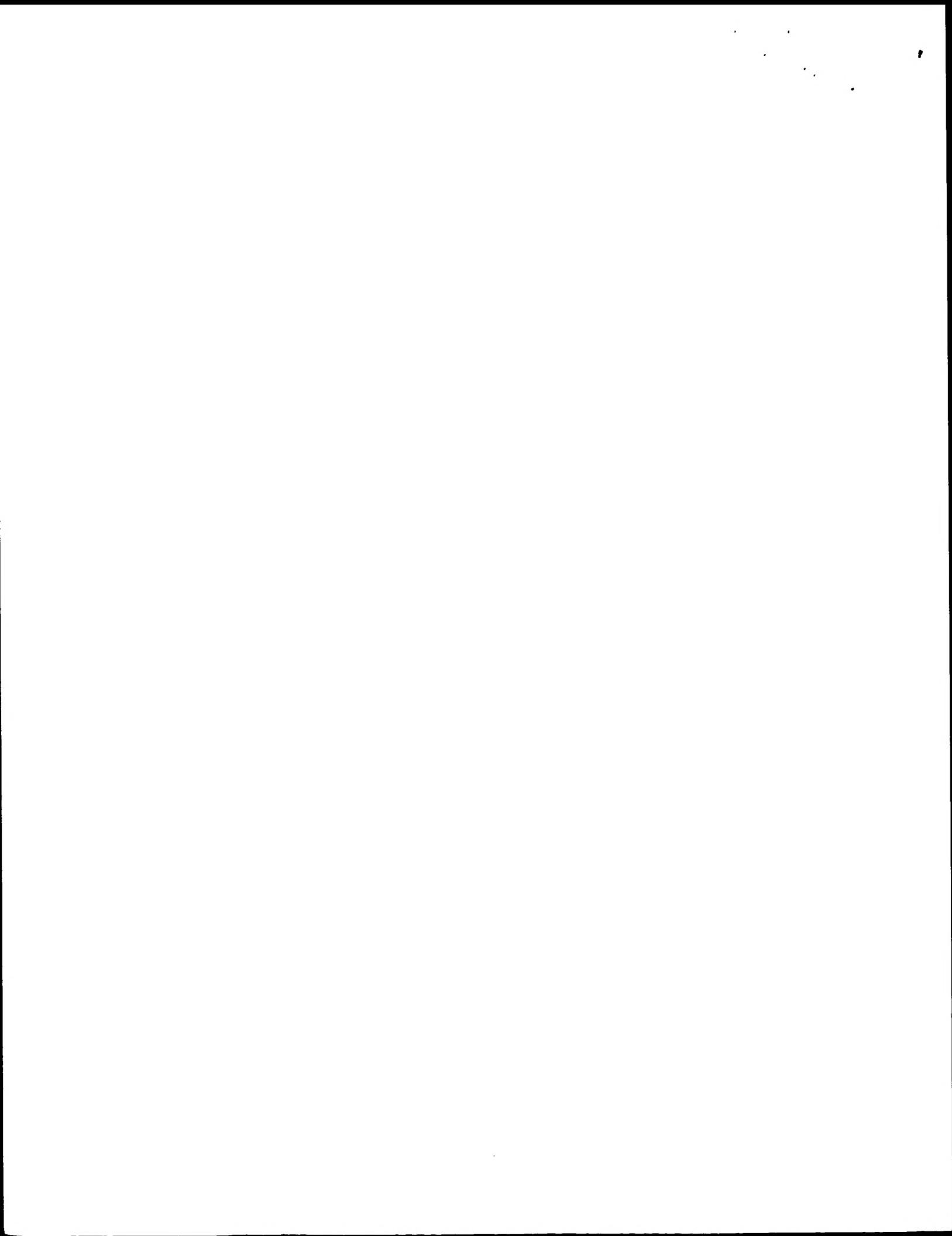
The following documents cited in the international search report were taken into account when assessing the present application:

- D1: Chemistry of Heterocyclic Compounds (Engl. translation), US, Plenum Press Co., New York, NY (1982), 18(4), 369-374
- D2: WO-A-84/04523
- D3: US-A-4 617 398
- D4: US-A-4 806 531
- D5: US-A-5 612 329.

**2. NOVELTY**

The subject matter of the present application, which concerns bis(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl) derivatives of Formula (I) as defined in Claim 1, does not appear to be novel over the above-mentioned reference documents (PCT Article 33(2)).

D1 describes in Formulae (IV) and (IX) the two compounds 1,2-bis-(aziridin-N-yl)glyoxim and 1,2-



bis-(2-methylaziridin-N-yl)glyoxim, which are covered by the present Claims 1, 2, 3, 4 and 6 when R stands for a simple bond in Formula (I).

D2-D5 likewise concern bis-aziridine compounds, but the aziridine groups are not bonded via a hydroxyiminomethyl group.

### 3. INVENTIVE STEP

The applicant appears to have addressed the problem of providing bis(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl) derivatives of Formula (I) useful for the treatment of tumours or cancerous diseases (see page 9 of the description).

3.1 The compounds described in the above-mentioned documents D2-D5 already showed anti-tumoral effects (see D2 and D3), an anti-cancerous effect (see D4) or an anti-neoplastic effect (see D5). However, no pharmacological effect has been described for the compounds known from D1.

In view of the presently available prior art, the structural modification of the claimed compounds, starting from the prior art documents D2-D5, which show the closest effect, does not appear to be obvious or to be necessarily suggested.

Consequently, in view of the substantial modifications of the present compounds, in comparison with the available prior art compounds, the proposed solution to the problem could be considered inventive.

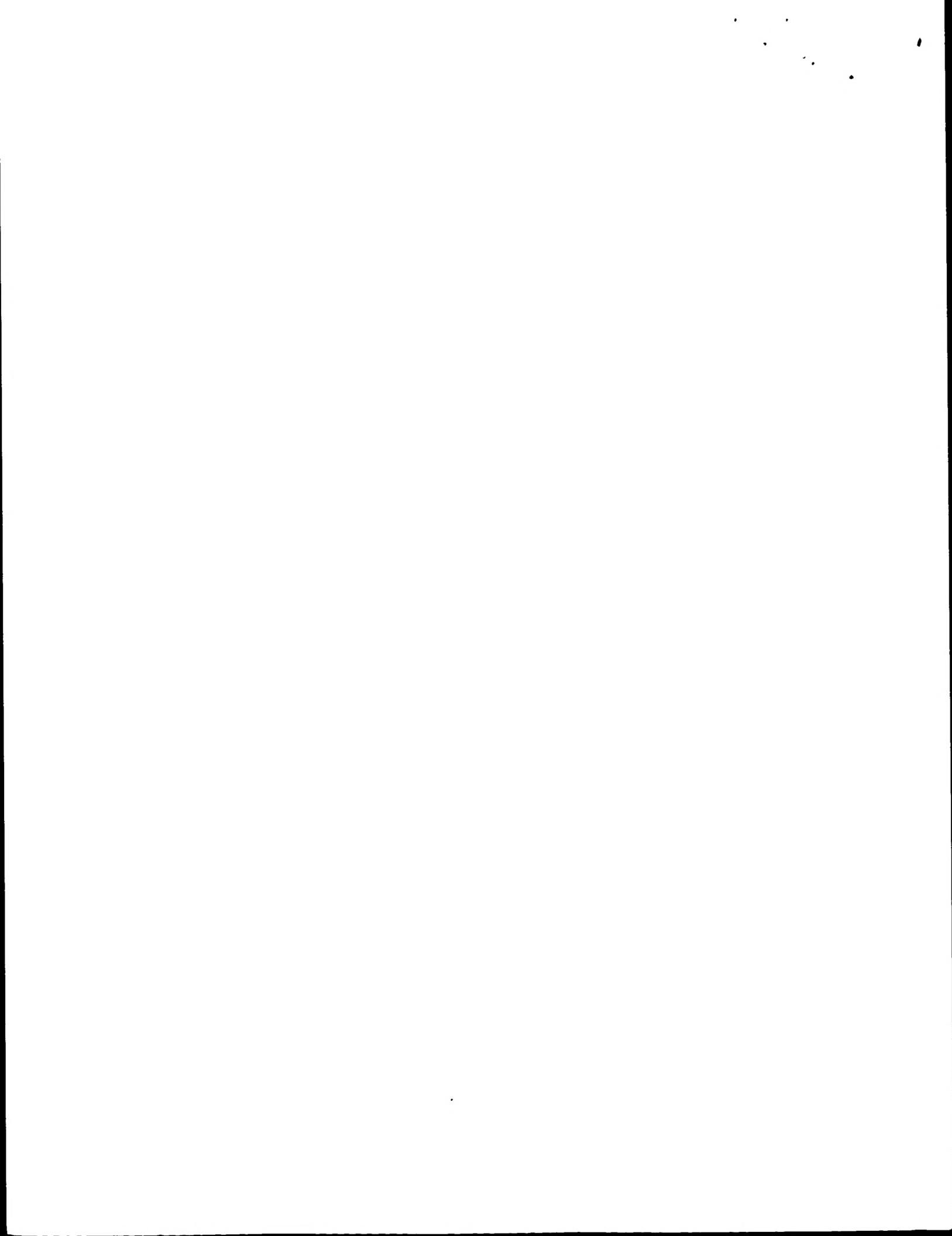


3.2 However, it should be noted that the effect that substantiates an inventive step should apply to the entire claimed scope. In view of the numerous possible substituents in Claims 1-4 (see Claim 1, in which R means any organic group), however, an inventive step cannot be acknowledged for the entire claimed scope of protection (PCT Article 33(3)).

In view of the test data already contained on page 9 of the application, only the scope of Claims 5, 10 and 11 appears to be plausible at present.

#### 4. INDUSTRIAL APPLICABILITY

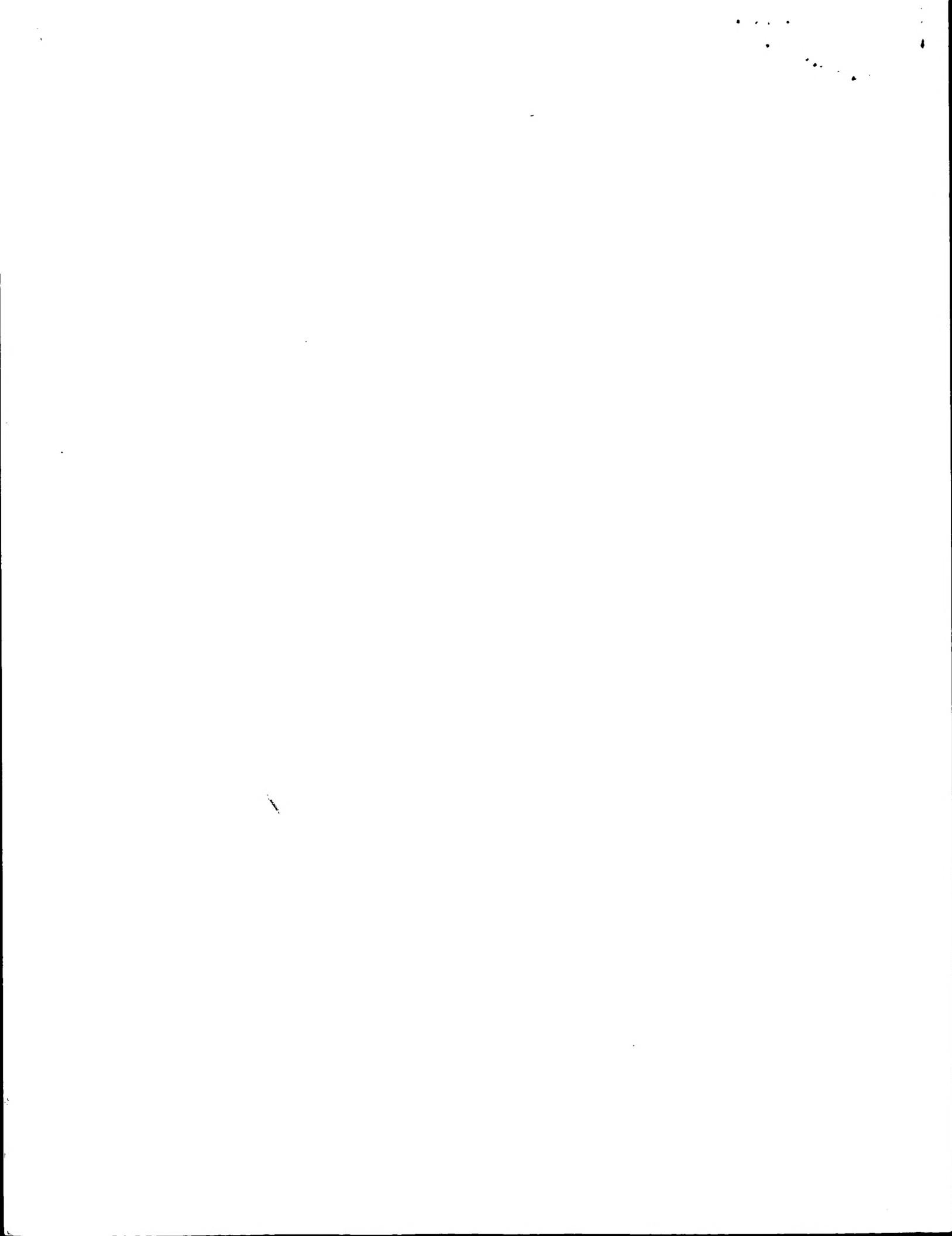
Insofar as the present compounds actually show the claimed antitumoral effects, there are no objections with regard to industrial applicability (PCT Article 33(4)).



**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

1. Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not mention the documents cited in the search report.
2. Example 5 describes the compound 1,3,5-tris-(1-aziridino-1-hydroxyiminomethyl)benzene, which is not covered by the claimed scope of protection, since  $n = 2$  in Formula (I). See also page 3, line 34.



**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

**PCT**

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>A01/1106/WO</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 00/03441</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>22/09/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>24/09/1999</b>
Anmelder <b>ANALYTICON DISCOVERY GMBH et al.</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

**1. Grundlage des Berichts**

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

- Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.
- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das
  - in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.
  - zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
  - bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
  - bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
  - Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
  - Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2.  **Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3.  **Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

**4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung**

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**BIS(1-AZIRIDINO-1-HYDROXYIMINOMETHYL)-DERIVATE, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG  
UND DEREN VERWENDUNG ALS ANTITUMORMITTEL**

**5. Hinsichtlich der Zusammenfassung**

- wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

**6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. \_\_\_\_\_**

- wie vom Anmelder vorgeschlagen
- weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
- weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

keine der Abb.



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PC/DE 00/03441

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES	IPK 7	C07D203/12	C07D401/14	C07D405/14	C07D413/14	A61K31/44
		A61K31/395	A61K31/415	A61P35/00		

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

BEILSTEIN Data, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>EREMEEV A.V. ET AL.: "Synthesis and investigation of aziridino dioximes"            CHEMISTRY OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS (ENGL. TRANSLATION), US, PLenum Press Co., NEW YORK, NY,            Bd. 18, Nr. 4, 1982, Seiten 369-374,            XP000986399            Verbindungen IV und IX            Seite 369            &amp; KHIMIYA GETEROTSIKLICHESKIKH SOEDINENII            , Nr. 4, 1982, Seiten 488-494,            in der Anmeldung erwähnt            ---</p>	1-3,6
A	<p>WO 84 04523 A (RIJKSUNIVERSTEIT TE GRONINGEN) 22. November 1984 (1984-11-22)            das ganze Dokument            ---            -/-</p>	1-11



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

- \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- \*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- \*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- \*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- \*&\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

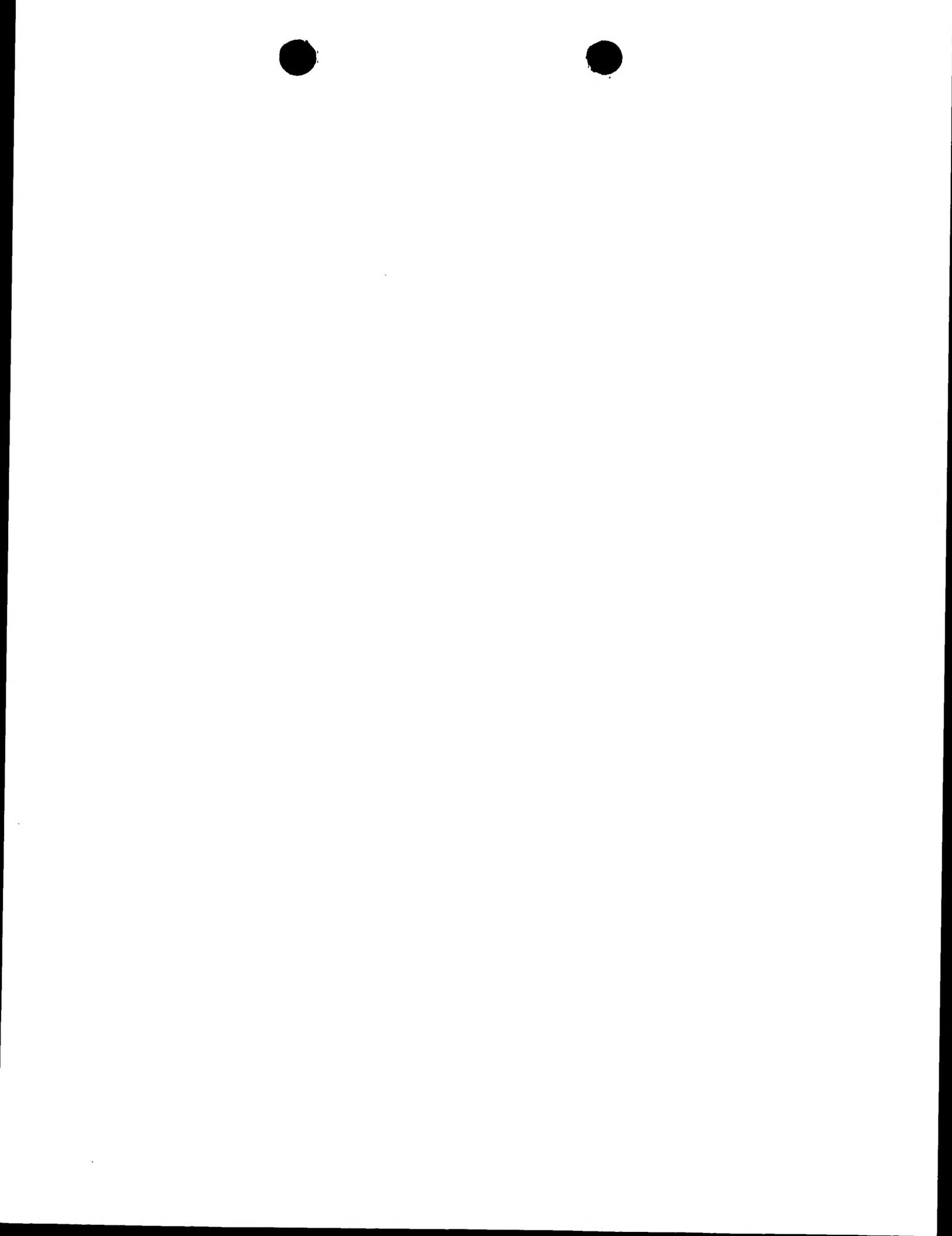
21. März 2001

27/03/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hartrampf, G



## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/03441

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESIEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 4 617 398 A (BARDOS T.J. & PERLMAN M.E.) 14. Oktober 1986 (1986-10-14) das ganze Dokument ---	1-11
A	US 4 806 531 A (SARTORELLI A.C. & LIN T.-S.) 21. Februar 1989 (1989-02-21) das ganze Dokument ---	1-11
A	US 5 612 329 A (CALLERY P.S. ET AL.) 18. März 1997 (1997-03-18) das ganze Dokument -----	1-11



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/03441

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)			Publication date
WO 8404523	A 22-11-1984	NL 8301626	A	03-12-1984	
		AU 560606	B	09-04-1987	
		AU 2867984	A	04-12-1984	
		DK 7485	A	07-01-1985	
		EP 0142543	A	29-05-1985	
		JP 60501257	T	08-08-1985	
US 4617398	A 14-10-1986	US 4886790	A	12-12-1989	
		US 4544501	A	01-10-1985	
US 4806531	A 21-02-1989	NONE			
US 5612329	A 18-03-1997	NONE			



**VERTRAG ÜBER INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM  
GEBIET DES PATENTWESENS**

**PCT**

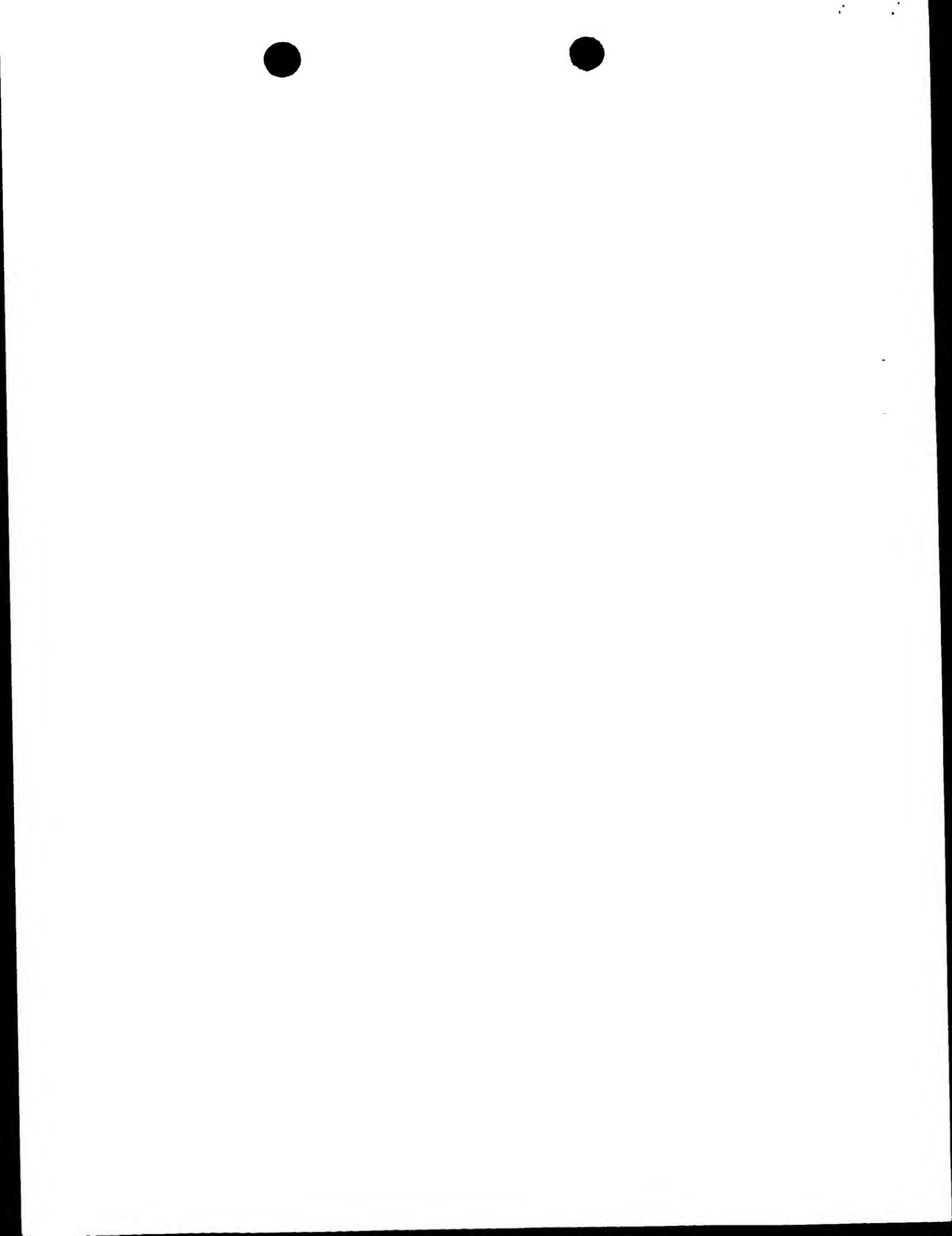
**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT**

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>A01/1106/WO</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE00/03441</b>	Internationales Anmelde datum (Tag/Monat/Jahr) <b>22/09/2000</b>	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) <b>24/09/1999</b>
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK <b>C07D203/00</b>		
Anmelder <b>ANALYTICON DISCOVERY GMBH et al.</b>		
<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.</p> <p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <p>I    <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts II   <input type="checkbox"/> Priorität III   <input checked="" type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit IV   <input type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung V    <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung VI   <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen VII   <input checked="" type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung VIII   <input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</p>		

Datum der Einreichung des Antrags <b>18/04/2001</b>	Datum der Fertigstellung dieses Berichts <b>04.12.2001</b>
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  vanVoorsttotVoorst,M Tel. Nr. +49 89 2399 8280
Formblatt PCT/IPEA/409 (Deckblatt) (Januar 1994)	





# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/03441

## I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-15 ursprüngliche Fassung

## Patentansprüche, Nr.:

1-11 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- Beschreibung, Seiten:
- Ansprüche, Nr.:
- Zeichnungen, Blatt:



# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/03441

5.  Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

### III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- die gesamte internationale Anmeldung.  
 Ansprüche Nr. 9,11.

#### Begründung:

- Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 9,11 beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):  
**siehe Beiblatt**

- Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
- Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

- Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.  
 Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

### V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/03441

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 5,7-11 Nein: Ansprüche 1-4,6
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche 5,10,11 Nein: Ansprüche 1-4,6-9
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche 1-8,10 Nein: Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen  
**siehe Beiblatt**

**VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:  
**siehe Beiblatt**



**AD PUNKT III:**

1. Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 9 und 11 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

Die Ansprüche 9 und 11 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

**AD PUNKT V:**

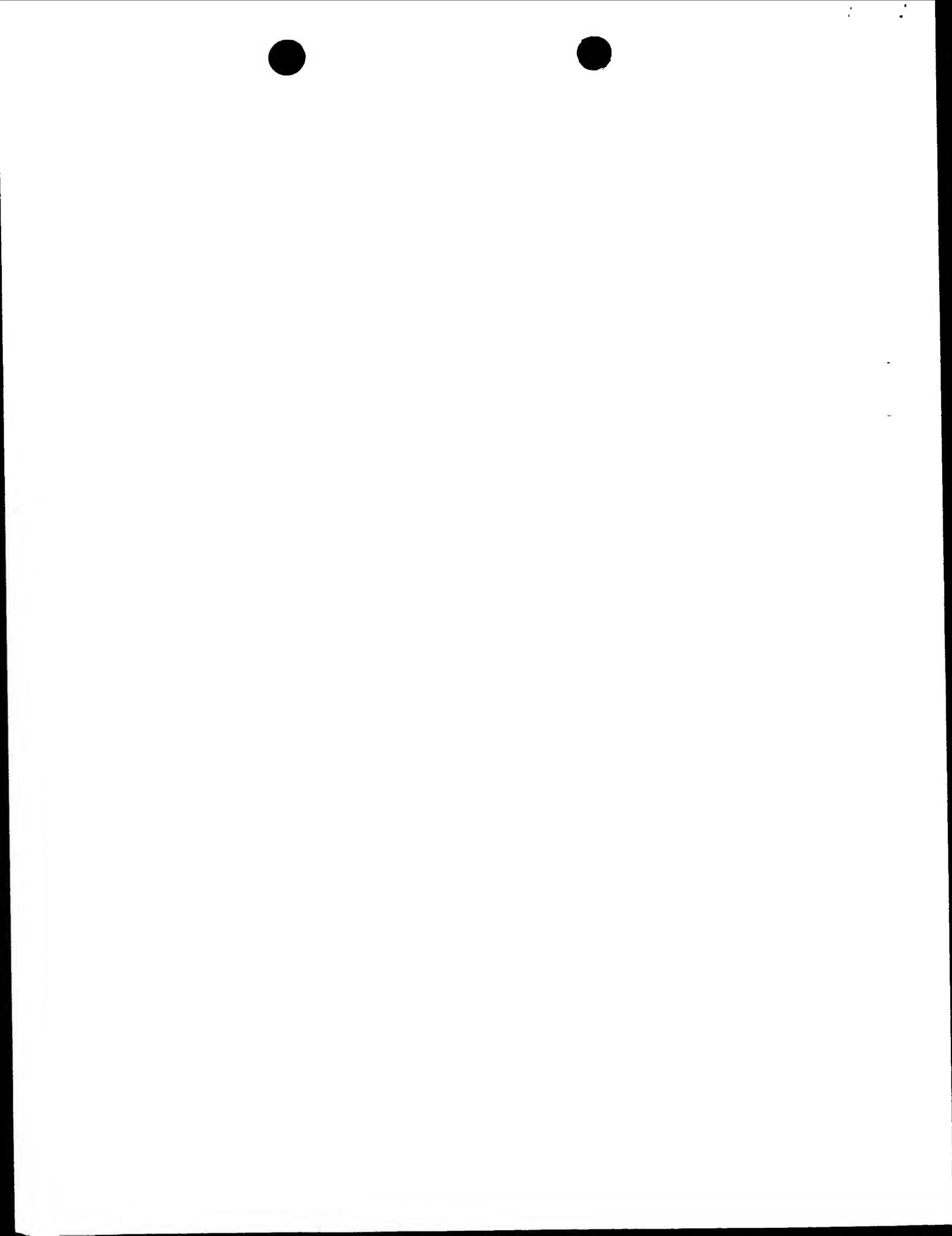
**1. STAND DER TECHNIK**

Bei der Beurteilung der vorliegenden Anmeldung wurden die folgenden im Internationalen Recherchenbericht zitierten Dokumente berücksichtigt

- D1: Chemistry Of Heterocyclic Compounds (engl. Translation), Us, Plenum Press Co., New York, Ny (1982), 18(4), 369-374  
D2: WO-A-8404523  
D3: US-A-4617398  
D4: US-A-4806531  
D5: US-A-5612329

**2. NEUHEIT**

Gegenüber den obigen Entgegenhaltungen scheint der Gegenstand der vorliegenden Anmeldung, wobei es sich um Bis(1-Aziridino-1- Hydroxyimino-



methyl)-Derivate der Formel (I) in Anspruch 1 handelt, nicht neu zu sein, Artikel 33(2) PCT.

D1 beschreibt mit den Formeln (IV) und (IX) die beiden Verbindungen 1,2-Bis-(Aziridin-N-yl)glyoxim und 1,2-Bis-(2-Methylaziridin-N-yl)glyoxim, die von vorliegenden Ansprüchen 1, 2, 3, 4 und 6 umfaßt werden, falls R in Formel (I) eine Einfachbindung bedeutet.

D2 bis D5 betreffen ebenfalls Bis-aziridin Verbindungen, wobei jedoch die Aziridin-Reste nicht über eine Hydroxyiminomethyl-Gruppe gebunden sind.

### **3. ERFINDERISCHE TÄTIGKEIT**

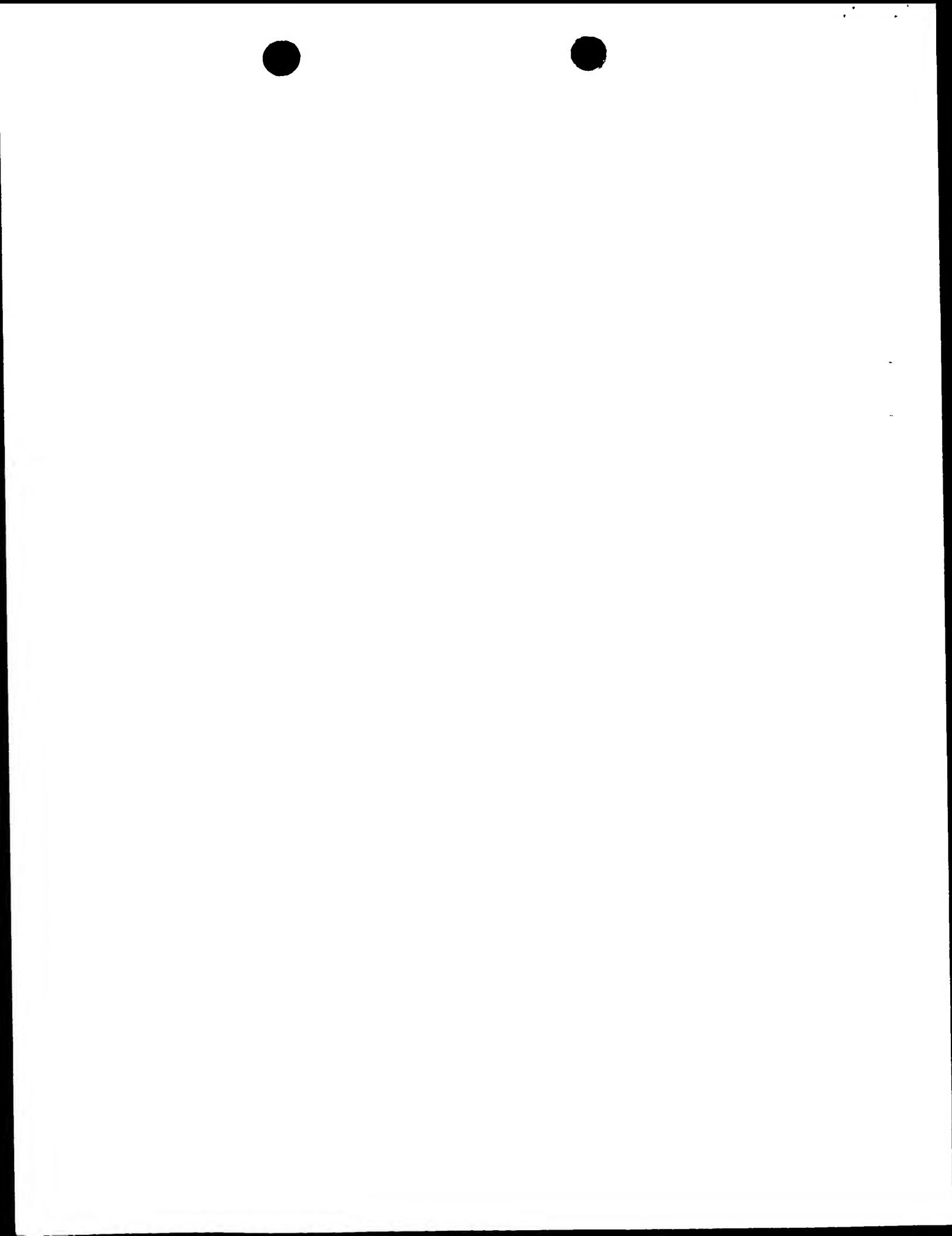
Der Anmelder scheint sich die Aufgabe gestellt zu haben, Bis(1-Aziridino-1-Hydroxyiminomethyl)-Derivate der Formel (I) bereit zu stellen, die zur Behandlung von Tumoren oder von Krebserkrankungen eingesetzt werden können, siehe Seite 9 der Beschreibung.

- 3.1. Die in den obengenannten Dokumenten D2 bis D5 beschriebenen Verbindungen weisen bereits Wirkungen gegen Tumoren (siehe D2 und D3) bzw. gegen Krebs (siehe D4) oder anti-neoplastische Wirkung (siehe D5) auf. Andererseits ist für die aus D1 bekannten Verbindungen keine pharmakologische Wirkung beschrieben worden.

Angesichts des zur Zeit vorliegenden Stands der Technik scheint die strukturelle Abwandlung der beanspruchten Verbindungen ausgehend vom wirkungsmäßig nächsten Stand der Technik D2 bis D5 weder offensichtlich noch zwingend nahegelegt.

Die vorgeschlagene Lösung des Problems könnte somit angesichts der Einführung wesentlicher Änderungen bei den vorliegenden Verbindungen im Vergleich zu denen des verfügbaren Standes der Technik als erfinderisch erachtet werden.

- 3.2. Allerdings wäre zu beachten, daß der eine erfinderische Tätigkeit begründende Effekt im behaupteten Umfang zutreffen muß. Angesichts der zahlreichen Möglichkeiten der auftretenden Substituenten in den Ansprüchen 1 bis 4 (siehe Anspruch 1 worin R einen beliebigen organischen Rest bedeutet) kann eine



erfinderische Tätigkeit im beanspruchten Umfang jedoch nicht anerkannt werden, Artikel 33(3) PCT.

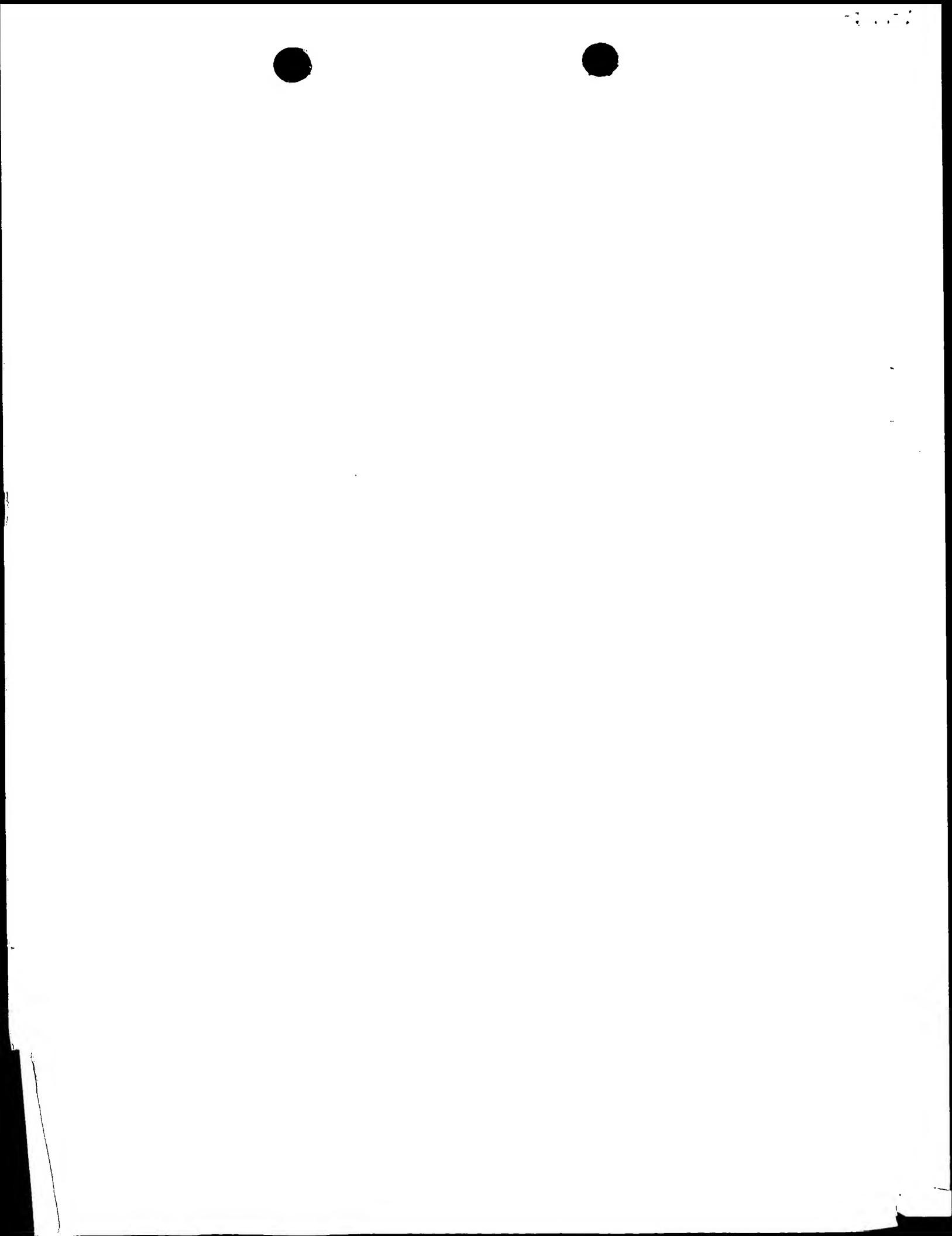
Anhand der bereits in der Anmeldung auf Seite 9 enthaltenen Testdaten scheint gegenwärtig lediglich der Umfang von den Ansprüchen 5, 10 und 11 plausibel.

#### **4. GEWERBLICHE ANWENDBARKEIT**

Es bestehen keine Bedenken insofern die vorliegenden Verbindungen die behauptete antitumorale Wirkung auch tatsächlich aufweisen, Artikel 33(4) PCT.

#### **AD PUNKT VII:**

1. Die Erfordernisse der Regel 5.1(a)(ii) PCT sind nicht erfüllt, da in der Beschreibung die im Recherchenbericht genannten Dokumente nicht angegeben werden.
2. Beispiel 5 beschreibt die Verbindung 1,3,5-Tris-(1-aziridino-1- hydroxyimino-methyl)benzol, die nicht unter den Anspruchsumfang fällt, da in Formel (I) n 2 bedeutet. Siehe auch auf Seite 3, Zeile 34.



## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION  
(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
US Department of Commerce  
United States Patent and Trademark  
Office, PCT  
2011 South Clark Place Room  
CP2/5C24  
Arlington, VA 22202  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 01 November 2001 (01.11.01)	
International application No. PCT/DE00/03441	Applicant's or agent's file reference A01/1106/WO
International filing date (day/month/year) 22 September 2000 (22.09.00)	Priority date (day/month/year) 24 September 1999 (24.09.99)
Applicant KALVINS, Ivars et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

18 April 2001 (18.04.01)

in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

\_\_\_\_\_

2. The election  was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombelettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer  Sean Taylor
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

